

SÉRIE A : 624

Numéro d'Ordre :

1360

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

PAR

RENÉ HUERRE

Pharmacien de 1^{re} classe
Ancien Interne des Hôpitaux de Paris

PREMIÈRE THÈSE. — Contribution à l'Étude de la Maltase

DEUXIÈME THÈSE. — Propositions données par la Faculté

Soutenues le 31 janvier 1910 devant la Commission d'Examen

MM. DASTRE.	Président
HAUG.	Examineurs
G. BERTRAND.	

PARIS
HENRI JOUVE, EDITEUR

15, rue Racine, 15

—
1910

SÉRIE A : 624

Numéro d'Ordre :

1360

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

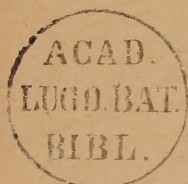
POUR OBTENIR

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

PAR

RENÉ HUERRE

Pharmacien de 1^{re} classe
Ancien Interne des Hôpitaux de Paris



PREMIÈRE THÈSE. — Contribution à l'Étude de la Maltase

DEUXIÈME THÈSE. — Propositions données par la Faculté

Soutenues le 31 janvier 1910 devant la Commission d'Examen

MM. DASTRE.	Président
HAUG.	} Examinateurs
G. BERTRAND. . .	

PARIS
HENRI JOUVE, ÉDITEUR
15, rue Racine, 15

1910

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

MM.

DOYEN P. APPELL, professeur. Mécanique rationnelle.

DOYEN HONORAIRE G. DARBOUX, professeur. Géométrie supérieure.

PROFESSEURS } L. TROOST.
HONORAIRES } Ch. WOLF.
J. RIBAN.

PROFESSEURS	{	LIPPMANN . . .	Physique.
		BOUTY	Physique.
		BOUSSINESQ . .	Phys. mathém. et Calcul des probabilités.
		PICARD.	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
		H. POINCARÉ . .	Astronomie mathémat. et mécan. céleste.
		YVES DELAGE . .	Zoologie, Anatomie, Physiol. comparée.
		G. BONNIER . . .	Botanique.
		DASTRE	Physiologie.
		KCENIGS.	Mécanique physique et expérimentale.
		VÉLAIN.	Géographie physique.
		GOURSAT.	Calcul différentiel et Calcul intégral.
		CHATIN.	Histologie.
		HALLER.	Chimie organique.
		JOANNIS.	Chimie (Enseignement P. C. N.).
		JANET	Physique (Enseignement P. C. N.).
		WALLERANT . . .	Minéralogie.
		ANDOYER.	Astronomie physique.
		PAINLEVÉ.	Mathématiques générales.
		HAUG	Géologie.
		TANNERY	Calcul différentiel et Calcul intégral.
		RAFFY	Application de l'Analyse à la Géométrie.
		HOUSSAY	Zoologie.
LE CHATELIER . .	Chimie.		
G. BERTRAND. . .	Chimie biologique.		
M ^{me} P. CURIE. . .	Physique générale.		
CAULLERY	Zool. (Évol. des êtres organisés).		
C. CHABRIÉ. . . .	Chimie appliquée.		
G. URBAIN	Chimie.		
BOREL	Théorie des fonctions.		
MARCHIS	Aviation.		
N.	Physique.		
N.	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.		
PUISEUX	Physique Céleste.		
LEDOC	Physique.		
PROFESSEURS } MATRUCHOI . . .	Botanique.		
ADJOINTS. } MICHEL	Minéralogie.		
G. PRUVOT. . . .	Anatomie comparée.		

SECRÉTAIRE . . A. GUILLET.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Préface.....	7
Introduction.....	10
Méthode expérimentale.....	15

CHAPITRE I

<i>Maltase des semences du maïs</i>	19
Maltase du maïs blanc des Landes.....	20
Conditions physiques de l'activité de la maltase du maïs blanc des Landes.....	21
Maltase du maïs jaune des Landes.....	26
Conditions physiques de l'activité de la maltase du maïs jaune des Landes.....	27
Maltases des maïs Rouge gros, Cuzco, King Philipp, Auxonne.....	33
Maltases hautes et maltases basses.....	34
<i>Unité et pluralité diastasique</i>	37
Caractères des maltases précipitées par l'alcool.....	39
Stabilité des conditions physiques d'activité des malta- ses.....	40
Stabilité du minimum.....	42
Stabilité de l'optimum.....	44
Stabilité du maximum.....	45

TABLE DES MATIÈRES

<i>Importance de la réaction du milieu dans les phénomènes diastasiques</i>	48
Action de l'acide sulfurique sur la maltase du maïs blanc des Landes.....	51
Influence de la potasse.....	53
Action de l'acide sulfurique sur la maltase du maïs jaune des Landes.....	55
Action de l'acide sulfurique sur la maltase du King Philipp et de l'Auxonne.....	56
Action de l'acide sulfurique sur la maltase des maïs Cuzco.....	57
Action des amino-acides et des amides.....	59
Action des sels.....	63
<i>Variations de la maltase au cours de la germination des semences de maïs</i>	66
Rôle des amino-acides.....	70
Rapports entre les variations de l'azote amidé et de la maltase.....	71
<i>Localisation de la maltase</i>	76
<i>Amylo-maltase du maïs</i>	79

CHAPITRE II

<i>Maltase du sarrasin</i>	83
Préparation de l'extrait. — Influence du temps.....	84
Rapports entre l'activité de l'extrait, le poids de substance épuisée et le volume de l'eau.....	84
Extraits glycerinés.....	86
Extraits chloroformés.....	87
Conditions physiques de l'activité de la maltase.....	88
Influence de la réaction du milieu.....	90
Action des acides.....	91

TABLE DES MATIÈRES

Action de la potasse.....	105
Action des amino-acides et des amides.....	106
Action des alcools.....	109
<i>Rôle joué dans les réactions diastasiques par les sels</i> <i>minéraux</i>	110
Action des sels sur la maltase du sarrasin.....	114
Sels de zinc.....	119
Sels de cadmium.....	122
Sels de nickel.....	125
Sels de manganèse.....	128
<i>Variations de la maltase pendant la germination</i>	134

CHAPITRE III

<i>Maltase insoluble du sarrasin</i>	137
Les diastases insolubles.....	140
Coexistence de la maltase insoluble et soluble dans le sarrasin non germé.....	142
Conditions physiques de l'activité de la maltase inso- luble.....	145
Minimum. Maximum.....	145
Optimum.....	147
Influence des acides minéraux.....	151
Influence des acides organiques.....	152
Influence de la potasse.....	157
Influence des amino-acides et des amides.....	158
Influence des sels.....	161
<i>Variations de la maltase insoluble au cours de la</i> <i>germination</i>	168

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE IV

Maltase dans la série végétale.....	175
Maltase des légumineuses.....	176
Localisation de la maltase chez le <i>Phaseolus multi-</i> florus.....	177
Conclusions.....	179

A MA FIANCÉE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MALTASE

PRÉFACE

L'intérêt qui s'attache à la connaissance des phénomènes diastasiques est justifié par ce fait que ces phénomènes sont en relation directe avec les manifestations de la vitalité. Agents de l'assimilation chez les animaux comme chez les végétaux les enzymes n'existent que chez les êtres organisés et président à toutes les phases de leur évolution.

Aussi, nombreux sont ceux qui ont exercé leur activité dans cet ordre d'études, espérant tirer de leurs recherches des conclusions philosophiques, dont la généralisation pourrait éclaircir le mystère de la vie.

Cependant tous les efforts tentés jusqu'ici n'ont pas abouti ; et si les résultats obtenus ont puissamment contribué aux progrès des sciences biologiques, de nombreuses hypothèses peuvent encore être faites sur la nature et le

fonctionnement des diastases : ce qui s'explique par l'impossibilité dans laquelle on se trouve d'isoler les enzymes à l'état de pureté.

On les a d'abord considérés comme des principes organiques chimiquement définis. Puis on a opposé la théorie physique de l'enzyme propriété à celle de l'enzyme substance : les diastases étant des propriétés de substances matérielles et non des substances matérielles.

Cette théorie physique a d'ailleurs été abandonnée par la plupart de ses partisans depuis que l'intervention de l'élément minéral dans le complexe qui constituerait l'enzyme a été définitivement mise en lumière par les travaux de G. Bertrand qui a montré le rôle des « co-ferments » dans le système diastasique actif.

Enfin l'étude des diastases, envisagées comme substances colloïdales, a permis d'expliquer certains phénomènes de leur activité.

On ne trouvera dans ce travail rien qui vienne ajouter à nos connaissances actuelles sur le fonctionnement intime des enzymes : nous n'ignorons pas que beaucoup de faits dont nous avons pu établir l'indiscutable matérialité restent sans interprétation satisfaisante.

Peut-être cependant voudra-t-on reconnaître que nous avons apporté quelques notions nouvelles à l'étude des diastases insolubles et que nos observations fortifient singulièrement l'hypothèse de la pluralité des maltases.

Qu'il me soit permis de témoigner à M. le professeur E. Perrier mes sentiments de respectueuse gratitude. Je ne saurais oublier que sa haute bienveillance a contribué à

me faciliter l'accès des laboratoires du Muséum en qualité de boursier de doctorat.

Je veux dire à M. le professeur Maquenne combien je lui sais gré de l'accueil que j'ai reçu dans son laboratoire, de l'appui et des encouragements qu'il m'a donnés pendant le cours de ces recherches entreprises sous son inspiration : je le prie de vouloir bien agréer ici l'hommage de ma très vive et très sincère reconnaissance.

INTRODUCTION

Si les recherches sur les diastases se sont multipliées dans ces dernières années, les travaux relatifs à la maltase n'ont pas été très nombreux. On n'a pas entrepris à propos de cet enzyme les multiples expériences systématiques auxquelles a donné naissance l'étude de l'amylase et des diastases oxydantes et protéolytiques.

Depuis les expériences de Croft Hill (1) sur la réversibilité de l'action de la maltase, nous ne voyons à signaler que les recherches d'Armstrong (2) sur l'action de la maltase, dont les conclusions ont d'ailleurs été contestées, les travaux de Bierry et Terroine sur la maltase du suc pancréatique, enfin la thèse de M^{lle} Philoche (3) qui s'est attachée à établir les lois d'action de cette diastase envisagée comme catalyseur colloïdal agissant sur un cristalloïde.

La maltase est très répandue chez les animaux et les végétaux. Béchamp constatait en 1865 la présence dans l'urine d'un enzyme transformant l'amidon en glucose qu'il appela néphrozymase. C'est cette diastase ou plus

1. Croft Hill. *Journ. Chem. Soc. Transactions*, 1898-1903.

2. E. F. Armstrong. *Proc. of the. Roy. Soc. London*, 1904.

3. M^{lle} Philoche. *Recherches physico chimiques sur l'amylase et la maltase*. Paris, 1908.

exactement le mélange de diastases que Dubourg étudia en 1889 (1).

Les travaux de Brown et Héron (2) et d'Emile Bourquelot (3) ont montré l'existence de la maltase dans le suc pancréatique et intestinal des porcs et des lapins.

Bierry et Terroine (4) ont enfin montré l'existence dans le suc pancréatique du chien, de maltase qui manifeste sa présence quand le suc normalement alcalin est légèrement acidulé par l'acide acétique.

Dans le règne végétal la maltase existe chez les phanérogames comme chez les cryptogames.

En 1886 Cuisenier (5) montre la présence dans le maïs d'un enzyme transformant l'amidon en glucose et qu'il nomma glucase. Nous verrons au cours de ce travail que cette glucase n'est pas une diastase simple mais un mélange de plusieurs sortes de maltases dont l'action peut être dissociée.

Depuis on a signalé la présence de la maltase dans la graine de Soja hispida (Stingl et Morawski), les feuilles de divers végétaux (6), les betteraves gelées ou en germination (Gonnermann) (7).

Elle existe chez beaucoup de végétaux inférieurs : moi-

1. Dubourg. *Recherches sur l'amylase de l'urine*. Thèse, 1889, et *Annales de l'Institut Pasteur*, 1889.

2. « Ueber die hydrolitischen Wirkungen des Pancreas und des Dünndarms », *An. Chim. und Pharm.*, 1880, p. 228.

3. *Recherches sur les propriétés physiologiques du maltose*, C. R., 1883.

4. C. R. 1905, t. CXXI, p. 146.

5. « Sur une nouvelle matière sucrée diastasique et sa fabrication », *Moniteur scientifique*, 1886, p. 718.

6. Duclaux. *Microbiologie*, t. II, p. 473.

7. Effront. *Les Enzymes*, p. 245.

sissures, levures, bactéries; on la trouve dans le *Penicillium glaucum*, l'*Aspergillus niger* (1), l'*Aspergillus orizæ* (2), l'*Eurotiosis Gayoni* (3), l'*Amylomyces Rouxii* (4).

Les travaux de Bourquelot, de Lintner et Kroeber (5) ont montré sa présence dans la levure de bière commune. Le *Schizosaccharomyces octosporus* contient une maltase très pure (6).

On l'a également trouvée dans le *Bacillus orthobutylicus* (Grimbert) et le *Granulobacter butylicum* et *saccharobutylicum* de Beyerinck.

Il est étrange de constater que le nombre des semences dans lesquelles la présence de la maltase a été signalée est très restreint.

Il y en a dans la graine de Soja hispida et dans le maïs mais elle ne semble pas exister dans les autres céréales. On a beaucoup discuté sur sa présence dans l'extrait d'orge et l'extrait de malt. Pugliese (7) concluait que la salive comme l'extrait de malt contiennent de l'amylase et de la maltase.

1. Bourquelot, 1883, C. R., t. LXXXVIII, p. 1000, et Pfeffer et Katz. *Schriften der Königl. sach. Gesellschaft der Wissenschaft*, Leip., 1896.

2. Atkinson. « Sur la diastase du Kōdji », *Moniteur scientifique*, t. XXIV, 1882.

3. Laborde. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1897, p. 23.

4. Bodin et Roland. *Contribution à l'étude de l'Amylomyces Rouxii. Bières et boissons fermentées*, mars 1897.

5. « Verschiedenheit der Hefeglucose von Maïs glucose und Invertine », *Ber. der deutsch. chem. Gesell.*, 1895, p. 1050.

6. Lindner et Fischer. « Enzyme von Schizosaccharomyces octosporus und saccharomyces Marxii », *Ber. der deut. chem. Gesell.* 1895, t. XXVIII, p. 984.

7. *Pflüger's archiv.*, t. LXIX, p. 115, 1897.

Davis et Ling (1) ont pu obtenir du glucose en faisant réagir la diastase du malt sur l'empois de fécule de pomme de terre, mais en se plaçant dans des conditions très particulières : ils précipitaient par l'alcool la diastase d'une solution aqueuse d'extrait de malt préalablement chauffée au-dessus de 55 degrés : ils ont constaté que le précipité agissant sur l'empois produit du glucose. Le rendement maximum en glucose, soit 12 0/0 des produits totaux d'hydrolyse, est obtenu avec une solution de diastase préalablement chauffée de 68 à 70 degrés. Mais un extrait ayant subi des modifications aussi profondes que celles que peut provoquer une température de 70 degrés ne saurait être assimilé à un extrait de malt normal et Fernbach et Wolf (2) concluent de leurs expériences, par l'examen des osazones, que contrairement à l'assertion de plusieurs auteurs le maltose est le seul sucre produit par l'extrait d'orge agissant sur l'empois d'amidon.

La présence de la maltase dans les semences, tout au moins au moment de la germination, devrait pourtant être un fait général, ceci pour deux raisons, l'une théorique, l'autre expérimentale.

D'abord l'état actuel de nos connaissances en physiologie végétale nous oblige à admettre que c'est exclusivement sous la forme de glucose que les substances hydrocarbonées sont utilisées par les végétaux. C'est à ce terme simple que doivent être amenés les corps plus ou moins complexes (polysaccharides, bioses ou trioses, glucosides)

1. Davis et Ling. *Journ. of. the Chemical Society*, janvier 1904, p. 16.

2. Fernbach et Wolf. *C. R.*, 1907, t. 144, p. 646.

qui, après hydrolyse, pourront être assimilés par la plante au cours de son développement.

L'amidon, réserve hydrocarbonée habituelle (albuminée ou cotylédonaire) des graines devra donc être transformé en glucose avant de servir à l'alimentation de la plante ; la maltase devrait ajouter son action à celle de l'amy-lase.

En outre quand on fait des macérations aqueuses de graines amylacées, germées, on constate que si l'extrait a été obtenu avec de l'eau bouillante il ne contient qu'une très petite quantité de sucres réducteurs ; si on le fait avec de l'eau froide la macération s'enrichit graduellement en sucre et le sucre produit est toujours du glucose ; car si on caractérise les sucres dans l'extrait en faisant les osazones, on obtient de la glucosazone : un dosage de l'amidon montre la disparition corrélative de cet hydrate de carbone ; on pourrait en conclure que ces graines contiennent de la maltase.

Cette conclusion serait beaucoup trop hâtive : si on ajoute du maltose à un extrait de ces graines on constate que le plus souvent il n'y a pas d'hydrolyse du maltose.

Donc : 1° Les semences amylacées doivent contenir de la maltase puisque leur amidon est assimilé ;

2° Il y en a vraisemblablement puisque les extraits de semences germées contiennent du glucose.

3° Le nombre des graines dans lesquelles on a nettement établi la présence de la maltase est très faible.

Nous essayerons de montrer que l'on peut concilier ces conclusions en apparence contradictoires au cours de ce

travail que nous avons consacré à l'étude de la maltase des graines.

Méthode expérimentale.

Dans toutes les expériences que nous avons faites nous avons calculé l'hydrolyse du maltose par les variations du pouvoir réducteur des solutions. La méthode polarimétrique bien que beaucoup plus rapide ne peut donner des résultats d'une précision suffisante. Nous avons employé le procédé de Mohr modifié par G. Bertrand (1).

Le précipité d'oxyde cuivreux formé est dissous dans un excès de solution sulfurique de sulfate ferrique. Le sulfate ferreux produit est dosé par le permanganate de potasse. Cette méthode donne des résultats d'une rigoureuse constance avec une sensibilité extrême. Elle permet de constater l'hydrolyse de milligrammes de maltose.

Les extraits que nous avons employés comme source de maltase contenaient des sucres réducteurs dont la proportion, dans les conditions ordinaires des expériences, augmente sous l'influence du temps et de l'élévation de température : la présence d'un témoin a permis dans chaque expérience de déterminer l'augmentation du pouvoir réducteur due aux variations de la solution diastasique elle-même.

Nous avons employé comme antiseptique le toluène à la

1. *Bulletin des sciences pharmacologiques*. « Le dosage des sucres réducteurs », 1^{er} janvier 1907.

dose de trois gouttes par 10 centimètres cubes : nous nous sommes assurés de l'efficacité de cet agent pour empêcher toute végétation cryptogamique alors même que les extraits avaient plusieurs semaines de préparation.

Sauf pour les expériences faites à la température du laboratoire et au-dessous nous avons toujours opéré non à l'étuve (où l'égalité de température n'est jamais absolue) mais au bain-marie dont la température était maintenue rigoureusement constante par un régulateur à glycérine et mercure.

Nous avons préparé nous-même le maltose qui a servi à nos expériences : nous l'avons obtenu en faisant réagir l'extrait de malt sur l'empois d'amidon. 3.000 grammes d'empois d'amidon à 5 0/0 ont été additionnés de 750 centimètres cubes d'extrait de malt à 10 0/0. On a neutralisé l'alcalinité totale de l'empois d'amidon et le $\frac{1}{3}$ de l'alcalinité de l'extrait de malt par $\text{SO}_4\text{H}^2 \text{N}/10$. Le tout a été mis au BM à 50 degrés pendant vingt-quatre heures ; le liquide qui ne bleuissait plus par l'iode a été concentré par distillation dans le vide. La liqueur amenée à consistance sirupeuse a été amorcée par un cristal de maltose. Quand la cristallisation a été complète on a délayé dans l'alcool à 70 degrés, essoré à la trompe et lavé rapidement à l'alcool à 70 degrés.

Le produit déjà blanc a été redissous dans l'alcool à 70 degrés bouillant, la solution distillée dans le vide, et le résidu amorcé par du maltose. Cette seconde cristallisation a été suivie d'une dissolution dans l'eau distillée pour se débarrasser complètement des dextrines. Après nouvelle concentration dans le vide, le résidu a cristallisé. On a

obtenu à chaque opération 30 grammes de maltose rigoureusement pur, car on a trouvé pour le pouvoir rotatoire du produit anhydre à 15 degrés :

$$\alpha^D = + 138.$$

Ce travail, au cours duquel nous avons surtout étudié la maltase au point de vue chimique et biologique, se divise en quatre parties d'importance d'ailleurs fort inégale :

1° Etude des propriétés de la maltase des semences (1) de maïs. — Conditions physiques et chimiques de son action. — Ses variations au cours de la germination. — Localisation. — Amylomaltase du maïs ;

2° Etude de la maltase soluble des semences du sarrasin ;

3° Etude de la maltase insoluble des semences du sarrasin ;

4° La maltase chez les légumineuses. — Recherche de la maltase dans la série végétale.

1. En réalité, il s'agit non de semences mais de fruits : caryopse du maïs, achaine du sarrasin. Mais nous avons vérifié que le péricarpe du sarrasin ne contient pas de maltase.

CHAPITRE PREMIER

Maltase des semences de maïs

Tous les auteurs ont constaté la présence de maltase dans les semences de maïs, mais les conclusions de leurs études sur les diastases que contient cette céréale sont notablement différentes.

Pour Cuisenier (1), des extraits aqueux faits à 35 degrés avec du maïs ne dissolvent pas toujours complètement l'amidon mais transforment en dextrose tout ce qu'ils en retirent : le maïs contient plus de maltase que d'amylase : il partait de ces observations pour préparer la céréalose.

Geduld (2) conclut également à la prédominance de la maltase sur l'amylase dans le maïs, mais d'après lui cette maltase est partiellement soluble, partiellement insoluble ; son optimum serait plus élevé que celui de la maltase de la levure de bière et se place entre 57 et 60.

D'après Jalowetz (3) la maltase est intégralement soluble : elle existe surtout dans le maïs germé. Contrairement à l'opinion de Geduld elle transformerait très bien à 57 degrés l'empois d'amidon en dextrine et glucose, c'est-à-dire

1. Cuisenier, *loc. cit.*

2. Geduld, *Journal de la distillerie française*, 1891.

3. *Mitth. der österr. Versuchsstation für Brauerei und Mälzerei*, fasc. 5.33, 1892.

que la quantité d'amylase contenue dans le maïs est assez considérable.

Morris (1) étudie la maltase du maïs germé et non germé et fixe son optimum à 50-55.

Les extraits de maïs et de malt de maïs perdent leurs propriétés diastasiques par la filtration : sous leur action la saccharification de l'amidon ne se fait que lentement mais la dextrine est transformée en glucose.

Toutes ces divergences de conclusions légitimaient une reprise de la question.

ETUDE DE LA MALTASE DU MAÏS « BLANC HÂTIF DES LANDES »

Nous avons commencé nos recherches en nous adressant, sans raison particulière, à l'espèce de maïs dite « blanc hâtif des Landes ». Nous supposions qu'il ne saurait s'agir de questions d'espèces et que les conclusions que nous tirerions de cette étude pourraient être généralisées et appliquées à la maltase de tous les maïs. Cette opinion était inexacte. Des expériences identiques ayant été faites avec une autre espèce de maïs cultivé pourtant dans le même pays, le « jaune hâtif des Landes », nous avons constaté qu'une des macérations hydrolysait le maltose à une température à laquelle la macération de l'autre espèce était absolument inactive. L'examen d'autres sortes de maïs nous a montré la complexité de la question

1. Morris. *Transactions of the Institute of Brewing*, mars 1893.

et prouvé la nécessité d'une étude individuelle de chaque variété de maïs.

Préparation des extraits. — Les semences de maïs sont broyées au moulin. On fait des macérations à 10 0/0. Les macérations sont plus ou moins prolongées. L'extrait obtenu est d'autant plus limpide que la macération a été plus longue. Les macérations d'une heure ne se clarifient pas complètement par filtration au papier. Elles restent louches et laissent déposer après quelques heures un précipité qui, recueilli, ne communique aucune activité diastasique à l'eau dans laquelle on l'introduit. Les macérations de vingt-quatre heures sont et restent absolument limpides. Cette prolongation de la macération n'augmente pas la richesse de l'extrait en maltase. Dans tous les cas, les macérations et les extraits obtenus après filtration sont additionnés de trois gouttes de toluène par 10 centimètres cubes pour empêcher les fermentations cryptogamiques.

Limite inférieure de l'activité de cette maltase. — Les extraits obtenus comme nous l'indiquons plus haut contiennent du glucose et la proportion du sucre augmente pendant plusieurs jours. Un témoin indique dans chaque expérience la valeur de cette augmentation. Nous avons constaté que l'extrait de maïs blanc des Landes hydrolysait le maltose à 15°. Il agit au dessous :

A. — Macération de maïs à 10 0/0, durée vingt-quatre heures. Après filtration on ajoute 1 0/0 de maltose.

Température de l'expérience : + 1° ; maltose hydrolysé après quarante-huit heures : 40,80 0/0.

B. — Macération de maïs à 10 0/0 d'une heure : addi-

tionnée de 2 0/0 de maltose. Température de l'expérience 0 degré (on a eu soin de maintenir au préalable l'extrait à la température à laquelle l'expérience devait être faite). Durée de l'expérience : six heures.

Maltose hydrolysé 8,10 0/0.

C. — Macération d'une heure : l'extrait est additionné de 2 0/0 de maltose. La température a été de 1 degré au-dessous de 0 pendant quatre heures, puis est descendue à 2 degrés au-dessous de 0 : il y a eu alors congélation ; la température est remontée après deux heures à 1 degré au-dessous de 0 et s'y est maintenue. Quantité de maltose hydrolysée après dix-huit heures : 8 0/0.

Cette maltase que nous nommerons *maltase basse* agit donc à des températures inférieures à 0. Il est probable qu'en chargeant l'extrait en corps cristallisés, sans action sur la diastase, et abaissant ainsi le point de congélation du mélange, on pourrait démontrer son activité à des températures encore inférieures à — 2 degrés.

Il ne faut donc pas dire avec certains auteurs (1) que les fermentations diastasiques sont nulles aux températures voisines de 0 degré. D'ailleurs Hoppe-Seyler a montré que la pepsine des animaux à sang froid fonctionne encore à 0 degré (2).

Limite supérieure de l'activité de cette maltase. — Cette maltase agit encore à 60 degrés. Après dix heures à cette température l'hydrolyse du maltose ajouté à l'extrait dans la proportion de 1 0/0 atteint 20 0/0.

1. Arthus. *Eléments de Chimie physiologique*, 1903, p. 115.

2. Hoppe-Seyler. *Archiv. für gen. Physiologie*, t. XIV, p. 395, 1877.

Elle n'agit plus à 65 degrés. Après trois heures à cette température l'hydrolyse du maltose est nulle. L'étendue thermique de l'activité de la maltase du maïs blanc des Landes est donc de 65 degrés centigrades (— 2 à + 63°).

Détermination de l'optimum. — Nous avons vu que Morris fixait à 50-55 l'optimum de la maltase du maïs, que Geduld situait cet optimum entre 57 et 60. Le fait que la maltase du maïs blanc n'agissait que faiblement à 60 degrés et plus du tout à 65 degrés devait nous faire supposer que l'optimum de cette espèce était bien inférieur à 55-60. C'est ce que nous avons établi par deux sortes d'expériences.

1° *Action de l'extrait sur l'empois d'amidon.* — On a employé une macération de maïs ayant été prolongée pendant quarante-huit heures ; on a mélangé volumes égaux d'empois d'amidon et de macération de maïs. Les mélanges ont été mis à 15 degrés et à 50 degrés, on constate que :

α) L'amidon disparaît beaucoup plus vite à 50 degrés qu'à 15 degrés.

Après dix heures à 50 degrés le mélange ne se colorait plus en bleu par l'iode : ce résultat est dû à l'action de l'amylase qui a son optimum à 50 degrés. L'amylase existe en petite quantité dans le maïs non germé ; nous avons constaté que contrairement à ce qui se passe pour la maltase, l'activité amylolytique de l'extrait était augmentée en prolongeant la macération. On a obtenu dans certaines conditions particulières permettant la destruction de la maltase une production de 0,42 centigrammes de maltose avec un extrait obtenu par macération de vingt-quatre

heures et seulement 30 centigrammes avec un extrait d'une heure agissant sur l'empois d'amidon. C'est pourquoi nous avons opéré ici avec un extrait dû à une macération prolongée.

β) Que bien qu'il reste après vingt heures de l'amidon non transformé dans le mélange maintenu à 15 degrés la quantité de sucres réducteurs (évalués en glucose) qu'il contient est supérieure à celle que contient le mélange soumis à la température de 50 degrés (83 cgr. au lieu de 72 cgr.).

γ) Qu'après trente-six heures la quantité de sucres réducteurs contenus dans le mélange maintenu à 50 degrés n'augmente plus ; qu'après trente-six heures elle augmente encore dans le liquide maintenu à 15 degrés.

δ) Que si on caractérise les sucres dans le liquide maintenu à 50 degrés on trouve du maltose (caractérisable par son osazone) à côté du glucose.

ε) Que si on fait les osazones dans le mélange maintenu à 15 degrés alors que la proportion des sucres réducteurs n'augmente plus, on ne trouve que de la glucosazone.

Tous ces faits ne peuvent s'expliquer que si la maltase du maïs blanc hâtif des Landes présente son optimum au-dessous de celui de l'amylase. Elle agit mieux à 15 degrés qu'à 50 degrés et est détruite à cette température avant que la transformation du maltose formé par l'amylase ne soit complète.

2° *Action sur le maltose.* — Avant de fixer l'optimum avec précision nous avons établi que cette maltase agissait mieux sur le maltose à des températures basses qu'à

des températures voisines de 50 degrés ou supérieures à ces températures.

A. — Macération d'une heure additionnée après filtration de 2 0/0 de maltose.

Hydrolyse après vingt-quatre heures à 15 degrés	66 0/0
— à 50 —	50

B. — Macération d'une heure + 1 0/0 de maltose

Hydrolyse après vingt-quatre heures à 19 degrés	75 0/0
— à 58 —	25

C. — Macération d'une heure + 2 0/0 de maltose

Hydrolyse après cinq heures à 39 degrés	35,10 0/0
— à 55 —	10,80

D. — Macération d'une heure + 1 0/0 de maltose

Nous avons mis à 30, 40 et 50 degrés et dosé quand l'hydrolyse du maltose était complète à 40 degrés.

Maltose hydrolysé à 30 degrés	85 0/0
— à 40 —	100
— à 50 —	76,56

Tous ces résultats obtenus avec des macérations de durée différente et des concentrations en maltose variables, concordent pour montrer que l'optimum de cette maltase est inférieur à 50 degrés.

Nous avons fixé cet optimum.

E. — Extrait de maïs + 1 0/0 de maltose.

Maltose hydrolysé après trois heures à 40 degrés, 72,35 0/0, à 45 degrés 65,95 0/0.

La maltase est donc plus active à 40 degrés qu'à 45 degrés.

F. — Extrait de maïs + 1 0/0 de maltose.

Maltose hydrolysé après six heures à 37 degrés : 85 0/0 ; à 40 degrés : 90 0/0 ; à 42 degrés : 76,6 0/0.

Nous pouvons donc conclure : le maïs blanc hâtif des Landes contient une maltase qui fonctionne aux plus basses températures, n'agit plus à 62-65 degrés et a son optimum à 40 degrés. Ces propriétés la rapprochent de la maltase des levures qui, d'après Lintner et Krøber (1), présente aussi son optimum à 40 degrés, ; elle agit cependant à une température à laquelle la maltase de la levure n'agit pas encore et est encore active à 60-62 degrés alors que la maltase de la levure est déjà détruite.

Elle se rapproche aussi de l'amylomaltase (2) du *Penicillium glaucum* qui a son optimum à 45 degrés.

ÉTUDE DE LA MALTASE DU MAÏS JAUNE HÂTIF DES LANDES

Les semences du maïs jaune hâtif des Landes contiennent une maltase dont les propriétés sont absolument différentes. Ces deux sortes de maïs ne sont pas cultivées dans la même région.

Le « jaune des Landes » est cultivé dans le terrain sablonneux du Marensin, tandis que le « blanc » des Landes croît dans les terres grasses de la Chalosse, pays de prairies et de forêts de chênes.

Ce maïs jaune contient une maltase qu'en raison de ses propriétés nous pourrions nommer maltase haute.

1. Lintner und Krøber, « *Verschiedenheit der Hefeglucose von Maisglucose und Invertine* », *Ber. der deutsch. chem. Gesel.* 1895 p. 1050.

2. Laborde, *Annales de l'Institut Pasteur*, janvier 1897.

Nous ferons comme précédemment des macérations à 10 0/0 plus ou moins prolongées, nous verrons ainsi que les propriétés de la diastase ne se modifient pas suivant la durée de la macération.

Minimum d'activité de la maltase

A. — Macération d'une heure + 1 0/0 de maltose.

Après vingt heures à 15 degrés l'hydrolyse est nulle.

B. — Macération d'une heure + 1 0/0 de maltose.

Après vingt heures, à 18 degrés l'hydrolyse est nulle.

C. — Macération de trois heures + 1 0/0 de maltose.

Après vingt heures à 20 degrés, l'hydrolyse est nulle.

D. — Macération de vingt-quatre heures + 1 0/0 de maltose.

Après quarante-huit heures à 20 degrés l'hydrolyse est nulle.

Donc jusqu'à 20 degrés la macération de ce maïs se comporte comme si elle ne contenait pas de maltase : la maltase n'agit pas à 20 degrés. Nous avons constaté une hydrolyse du maltose à partir de 22 degrés.

E. — Macération de deux heures + 1 0/0 de maltose.

Après quarante-huit heures à 22 degrés, il y a 10,80 0/0 de maltose d'hydrolysé.

Action de l'extrait de maïs jaune des Landes sur l'empois d'amidon aux températures inférieures à 20 degrés. —
Nous avons obtenu une confirmation décisive de l'inactivité de cette maltase au-dessous de 20 degrés en recherchant comment, à cette température, l'extrait de ce maïs

se comportait vis-à-vis de l'empois d'amidon. L'expérience que nous rapportons montre que dans ces conditions l'amidon n'est amené qu'au stade maltose.

Il ne pouvait pas s'agir de démontrer l'absence de glucosazone quand on fait agir l'acétate de phenylhydrazine sur les produits de la réaction. La macération de ce maïs, même faite au-dessous de 20 degrés, contient du glucose. Nous reviendrons sur ce fait. Il fallait établir que la quantité de glucose contenue dans le mélange d'empois et d'extrait de maïs n'était pas plus grande que celle que contenait l'extrait de maïs employé.

On fait agir à 18 degrés 20 centimètres cubes d'extrait de maïs sur 20 centimètres cubes d'empois d'amidon à 50/0.

Un autre flacon contient un mélange de 20 centimètres cubes d'extrait de maïs et 20 centimètres cubes d'eau distillée.

Quand la liquéfaction est complète et que le mélange ne se colore plus en bleu par l'iode, on filtre. On prélève le même volume (15 cmc.) dans les deux flacons : on fait les osazones en laissant au bain-marie bouillant pendant deux heures. Après refroidissement on recueille les deux précipités sur deux filtres tarés. La dilution des liquides est suffisante pour que la maltosazone reste presque totalement en solution ; on élimine par des lavages avec un mélange d'eau et d'acétone à parties égales la petite quantité de maltosazone précipitée. Après dessiccation on pèse : les deux filtres ont le même poids.

Un second dosage fait après avoir laissé la réaction se poursuivre pendant deux jours a donné un résultat iden-

tique. Au-dessous de 20 degrés l'extrait de maïs jaune des Landes est incapable d'hydrolyser le maltose et seule l'amylase qu'il contient agit sur l'amidon.

Ces résultats viennent fortifier la théorie de la présence de plusieurs diastases différentes (amylase, dextrinase, maltase) agissant successivement dans les liquides végétaux ou organiques qui conduisent l'amidon au stade glucose, alors même que le stade maltose ne peut être décelé. Duclaux (1) faisait remarquer à propos de la diastase de l'urine étudiée par Dubourg qu'on se représentait mal une diastase unique amenant rapidement l'amidon au stade maltose et ne le conduisant que péniblement au stade glucose. On comprendrait encore bien moins qu'une diastase unique, après avoir commencé à agir au-dessous de 20 degrés, ne puisse rendre son action complète qu'au-dessus de 20 degrés.

A un autre point de vue le fait de l'inactivité de la maltase du maïs jaune des Landes au-dessous de 20 degrés présente un réel intérêt : d'abord parce qu'il montre les différences essentielles qui peuvent se manifester dans l'action de deux enzymes d'origine très voisine, ensuite, et à un point de vue plus général, parce qu'il se présente à nous comme une exception, la presque totalité des ferments solubles agissant à des températures bien inférieures à 20 degrés. Il n'y a que la présure qui se montre inactive au-dessous de 20 degrés. Fleischmann (2), n'avait pu obtenir la coagulation du lait aux températures inférieures à

1. *Microbiologie*, t. II, p. 509.

2. Bourquelot. *Les Ferments solubles*, p. 157.

20 degrés. Duclaux (1), supposant que l'action de la présure se manifesterait à cette température si l'expérience était prolongée pendant un temps suffisant, a pu conserver pendant un mois à 15 degrés du lait additionné de présure, sans obtenir de coagulation. La présure n'agit donc pas au-dessous de 15 degrés,

Puisque la maltase du maïs jaune hâtif des Landes est au-dessous de 20 degrés sans action sur le maltose et sur les produits de l'hydrolyse diastasique de l'amidon, comment expliquer qu'une macération de maïs faite au-dessous de 20 degrés contienne exclusivement du glucose, en contenant d'ailleurs d'autant plus que la macération aqueuse est plus prolongée ? Faut-il admettre qu'il existe dans le maïs une maltase insoluble (dont nous établirons l'existence dans d'autres semences) agissant au-dessous de 22 degrés et une maltase soluble n'agissant qu'à partir de 22 degrés ?

Recherche de la maltase insoluble. — On fait deux macérations de semences de maïs moulues à 10 0/0 sans filtrer. Une des macérations a été additionnée de 1 gramme de maltose pour 100 centimètres cubes d'eau en ajoutant le maltose au mélange d'eau et de farine ; on filtre les deux macérations après quarante-huit heures de séjour à 17 degrés, puis on dose les sucres réducteurs dans les deux filtrats pour déterminer la proportion de sucres due à l'action des diastases sur les matières amylacées des graines : deux expériences différentes ont montré qu'il n'y avait pas eu d'hydrolyse

1. « Mémoire sur le lait », *Annales de l'Institut agronomique*, 1874-1880.

du maltose. Il n'existe donc pas dans le maïs jaune des Landes de maltase insoluble transformant en glucose le maltose en solution aqueuse au-dessous de 20 degrés.

Nous établirons plus loin que l'apparition de glucose dans la macération du maïs est bien corrélative de la disparition de l'amidon des semences et due à une action diastasique spéciale.

Fixation de la température maxima d'activité de la maltase du maïs jaune des Landes. — Cette maltase agit à 70 degrés. Après six heures à cette température nous avons obtenu une hydrolyse du maltose s'élevant à 17,80 0/0.

Elle agit encore à 80 degrés. Après deux heures et demie à 80 degrés, il y a eu 6,60 0/0 du maltose d'hydrolysé.

Tous les auteurs ont trouvé que la maltase était détruite à cette température. La maltase de l'*Aspergillus niger*, étudiée par Laborde (1), qui a fixé son optimum à 60 degrés, ne résiste pas à cette température.

L'activité de cette maltase s'étend donc de + 22 à 80-82, soit 60 degrés centigrades.

L'étendue thermique de son activité est donc un peu moindre que celle (65°) de la maltase du maïs blanc des Landes.

1. Laborde. *Annales de l'Institut Pasteur*, janv. 1897.

Détermination de l'optimum

A. — Extrait de maïs à 10 0/0 additionné
de 2 0/0 de maltose

Température des expériences	Maltose hydrolysé en centièmes après 6 heures
—	—
30 degrés	11,10
40 —	17,80
50 —	33,30
60 —	42,20
70 —	17,80

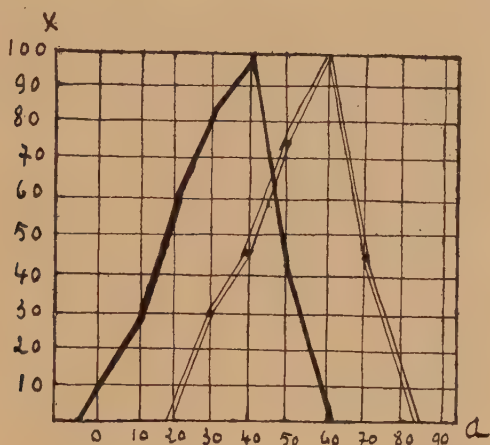
L'optimum se trouve donc entre 50 et 60 degrés.

B. — Températures	Maltose hydrolysé après 3 heures
52 degrés	30
55 —	35
58 —	42
60 —	43

Il est voisin de 60 et un peu au-dessous de 62 degrés car dans une dernière expérience il y a eu 50 0/0 de maltose hydrolysé à 58 degrés, 52 0/0 à 60 degrés et 49 0/0 à 62 degrés. L'expérience avait duré six heures.

Le tracé ci-dessous dans lequel on a porté en abscisses les températures et en ordonnées les proportions de maltose hydrolysé permet de comparer les conditions d'activité des maltases du maïs blanc et jaune à différentes températures. On a représenté par 100 la quantité de maltose hydrolysé à l'optimum et exprimé proportionnellement l'hydrolyse aux autres températures. La graphique de la maltase du maïs jaune traduit l'expérience A.

Pour le blanc des Landes nous avons fait une expérience spéciale de deux heures à 10, 20, 30, 40 et 50 degrés.



— Maltase du maïs blanc hâtif des Landes.

- - - Maltase du maïs jaune hâtif des Landes.

Influence de la température sur l'hydrolyse du maltose par les maltases des maïs.

Etude des Maltases de Maïs : Auxonne, King Philipp., Cuzco, Rouge gros

L'étude de plusieurs autres variétés de maïs nous a montré que les maltases qu'ils contiennent peuvent rentrer suivant les espèces dans le groupe des maltases hautes ou des maltases basses.

Maïs d'Auxonne. — Extrait à 10 O/0 additionné de 10/0 de maltose. Après quarante-huit heures à 17 degrés l'hydrolyse du maltose est nulle, l'extrait s'est montré actif à 25 degrés.

Ce maïs contient une maltase haute.

Maïs rouge gros. — Extrait à 10 O/0 additionné de

1 0/0 de maltose. Après dix-huit heures à 15 degrés il y a 11 0/0 de maltose d'hydrolysé.

Maïs Cuzco blanc. — Après dix-huit heures à 15 degrés l'hydrolyse atteint 20, 40 0/0.

Maïs Cuzco rouge. — Après vingt heures à 17 degrés l'hydrolyse atteint 14 0/0.

Le Cuzco rouge agit d'ailleurs à des températures beaucoup plus basses : à 7 degrés, après vingt-quatre heures on constate une hydrolyse du maltose de 12 0/0 et après vingt-quatre heures à 1 degré au-dessus de 0 degré l'hydrolyse atteint encore 8,15 0/0.

Maïs King Philipp. — Contient une maltase basse : après vingt heures à 13 degrés l'hydrolyse du maltose atteint 6 0/0. Nous pouvons donc classer les maïs suivant que leur maltase agit ou n'agit pas au-dessous de 20 degrés.

Maïs à maltase haute	Maïs à maltase basse.
Maïs jaunè hâtif des Landes.	Maïs blanc hâtif des Landes.
Maïs d'Auxonne.	King Philipp.
	Cuzco rouge.
	Cuzco blanc.
	Rouge gros.

Toutes les maltases basses de maïs ont-elles leur optimum au-dessous de 50 degrés ? Nous avons étudié à ce point de vue le King Philipp et le Cuzco rouge.

Extrait de King Philipp additionné de 1 0/0 de maltose

A. Maltose hydrolysé après 5 heures à 40 degrés	21,30 0/0
55 —	14,90 0/0
B. Maltose hydrolysé après 3 heures à 40 —	11 0/0
50 —	7 0/0

L'optimum est donc inférieur à 55 degrés et même à 50 degrés.

C. — Mais il est plus près de 50 que de 45 degrés ; l'hydrolyse atteint dans le même temps 22,50 0/0 à 45 degrés et 27,50 0/0 à 50 degrés.

D. — Une dernière expérience le place entre 47 et 50.

Températures	Maltose hydrolysé après 4 heures 1/2
44 degrés	19
47 —	24
51 —	22
56 —	8
62 —	0

L'activité est déjà très réduite à 56 degrés

Nous avons vérifié que cette maltase était détruite dès 60 degrés.

Maltase du Cuzco. — Le cuzco se comporte de tout autre manière.

Macération de cuzco rouge à 10 0/0. Après filtration l'extrait est additionné de 1 0/0 de maltose.

Maltose hydrolysé après six heures et demie à :

25 degrés.	16,30 0/0
40 degrés.	22,45 0/0
50 degrés.	38,75 0/0

L'optimum n'est pas atteint à 50 degrés.

Il ne l'est pas encore à 53 degrés. Après cinq heures et demie l'hydrolyse atteint 28,50 0/0 à 50 degrés et 36,70 à 53 degrés.

L'optimum n'est pas inférieur à 58 degrés. L'hydrolyse du maltose a atteint après trois heures :

20 0/0 à 52 degrés ; 24 0/0 à 55 degrés ; 30 0/0 à 58 degrés et 28 0/0 à 60 degrés.

Le cuzco a donc à la fois les caractères des maltases du blanc des Landes puisqu'il agit dès 0 degré et du jaune des Landes puisque son optimum est voisin de 60 degrés.

Il existe donc des différences profondes entre les maltases des différents maïs et l'on s'explique la divergence des conclusions des auteurs qui se sont occupés de cette question en ne s'adressant probablement pas à la même espèce. Mais devons-nous en conclure qu'il existe plusieurs maltases ? Nous essayerons de justifier cette conclusion sans nous dissimuler que nous avons contre nous les opinions les plus autorisées.

Unité et pluralité diastasiques

Laborde (1) étudiant les propriétés des amylo-maltases de l'*Aspergillus niger*, de l'*Eurotiosis gayoni* et du *Penicillium glaucum* constate que si on fait agir sur l'empois d'amidon les liquides diastasiques préparés avec ces trois moisissures la transformation de l'amidon présente des particularités dépendant de l'origine de l'amylo-maltase ; qu'en outre, la température optima de l'action, qui est d'ailleurs la même pour l'amidon et le maltose, diffère pour chaque moisissure, elle est de 60 degrés pour l'*Aspergillus*, de 45 degrés pour le *Penicillium* et de 40 degrés pour l'*Eurotiosis*. De plus, la température de destruction des enzymes est variable, 70 degrés pour le *Penicillium*, 75 degrés pour l'*Eurotiosis*, 80 degrés pour l'*Aspergillus* ; il en conclut qu'on est autorisé à concevoir l'existence de trois amylo-maltases de nature différente de même que d'après les recherches de M. Fernbach (2) on doit admettre que la sucrase de l'*Aspergillus* diffère de la sucrase des levures entre lesquelles il y a encore des différences.

1. Laborde, *loc. cit.*

2. Fernbach. « Recherches sur la sucrase », *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890.

Pouvons-nous donc dire qu'il existe plusieurs espèces de maltases et de sucrases ? Non, d'après la plupart des auteurs.

Pour Duclaux (1) « la température optima d'une diastase quelconque ne dépend pas que d'elle et est largement influencée par la nature et la composition du liquide qui la tient en dissolution. »

Suivant Effront (2), il faut admettre que « toutes les différences que nous constatons chez les maltases des diverses provenances, proviennent exclusivement des substances étrangères qui les accompagnent et qui influent sur leur sensibilité vis-à-vis des réactifs. »

Enfin Bourquelot (3) juge que « l'optimum d'une même diastase peut être fort variable, car si le ferment se trouve en présence d'un agent nuisible, celui-ci même à faible dose abaisse sa température de destruction et abaisse également la température optima de son action. »

Nous allons discuter ces conclusions en établissant que :

1° La distinction entre diastase haute et basse persiste quand on fait agir sur le maltose la poudre obtenue en additionnant d'alcool les extraits de maïs blanc et jaune des Landes ;

2° Que les caractères différentiels des maltases sont indépendants de la réaction du milieu, de la présence

1. Duclaux. *Microbiologie*, t. II, p. 512.

2. Effront. *Les Enzymes*, p. 252.

3. Bourquelot. *Les Ferments solubles*, p. 146.

d'éléments chimiques nuisibles ou utiles, et subsistent après germination des semences :

1° *Les maltases précipitées par l'alcool conservent leur caractère de maltase haute et basse.*

Cent centimètres cubes d'extrait obtenu par macération d'une heure de 10 grammes de semences de maïs blanc broyées au moulin sont additionnés après filtration d'un égal volume d'alcool à 95 degrés ; il se forme un précipité floconneux qui en deux heures s'est condensé au fond du vase ; on filtre et on essore à la trompe.

La poudre obtenue est desséchée à l'étuve à 25 degrés ; on la redissout après dessiccation dans 20 centimètres cubes d'eau distillée, on filtre ; on obtient ainsi une solution qui devrait être cinq fois plus active que l'extrait ordinaire. On additionne cette solution de 2 0/0 de maltose : on laisse vingt-quatre heures à 15 degrés. Après ce temps l'hydrolyse atteint 25 0/0. Cette maltase agit donc encore au-dessus de 20 degrés mais son activité est bien affaiblie puisque dans une expérience citée plus haut l'extrait de maïs blanc avait hydrolysé dans le même temps à la même température 66 0/0 de maltose.

Une expérience de tous points identique a été faite avec le maïs jaune des Landes : la solution aqueuse du précipité produit par l'alcool s'est montrée sans action sur le maltose après quarante-huit heures à 20 degrés. Elle a hydrolysé 15 0/0 de maltose après six heures à 60 degrés. L'hydrolyse du maltose à 60 degrés en six heures par l'extrait de maïs jaune avait atteint 42 0/0.

La précipitation alcoolique ne détruit donc pas les carac-

lères essentiels de ces deux maltases (et c'est là le point sur lequel on peut insister) mais elle diminue beaucoup leur activité qui devient 13 fois moindre pour le blanc des Landes et 14 fois moindre pour le maïs jaune des Landes.

Cette action nocive de l'alcool ne doit pas nous surprendre : il est vrai que d'après Gedulde la maltase du maïs résiste bien à l'action de l'alcool mais pour d'autres auteurs le contact alcoolique permet de détruire la maltase dans un mélange de maltase et d'amylase. D'après Pugliese (1) un précipité de maltase et d'amylase ne contient plus que de l'amylase quand, après l'avoir laissé un temps suffisant en présence de l'alcool, on le sépare et on le reprécipite par l'alcool après l'avoir dissous dans l'eau.

L'inactivité partielle ou totale de la maltase précipitée par l'alcool peut d'ailleurs résulter d'une précipitation incomplète. Les diastases sont beaucoup plus solubles dans l'alcool qu'on ne l'avait supposé pendant longtemps, puisque l'amylase pancréatique se dissout dans l'alcool à 65 degrés (2). Quoi qu'il en soit, nous retiendrons de ces expériences que même après élimination d'une partie des éléments qui leur sont associés dans l'extrait, les maltases des maïs blanc et jaune des Landes conservent leur caractère de maltase basse et haute.

2° Les conditions physiques d'activité des maltases (minimum, maximum, optimum de température) sont indépendantes des conditions chimiques du milieu.

1. Pugliese. *Pflüger's Archiv.*, t. LXIX, p. 115, 1897.

2. Dastre. C. R. Soc. Biologie, t. XLVIII, 1895, p. 414 et 798.

A. — Tous les extraits de maïs que nous avons étudiés sont alcalins à l'hélianthine : la quantité d'acide sulfurique N/10 qu'il faut ajouter à 10 centimètres cubes d'extrait (obtenu par macération de semences à 10 0/0) pour obtenir la neutralisation complète à l'hélianthine est variable. Si nous nous reportons au tableau où nous avons classé les maïs suivant la nature de leur maltase, nous voyons que :

L'alcalinité de 10 centimètres cubes de l'extrait de maïs jaune hâtif des Landes et Auxonne est saturée à l'hélianthine par huit gouttes de SO^4H^2 N/10;

L'alcalinité de 10 centimètres cubes d'extrait de maïs blanc des Landes et rouge gros est saturée par huit gouttes de SO^4H^2 N/10.

Celle des Cuzco blanc et rouge par neuf gouttes de SO^4H^2 N/10 ;

Celle des King Philipp par 12 à 14 gouttes.

Nous voyons :

Que des espèces présentant la même alcalinité à l'hélianthine (jaune des Landes. Auxonne d'une part, blanc des Landes, rouge gros d'autre part) appartiennent à deux groupes différents tant au point de vue du minimum que de l'optimum d'activité de leur maltase ;

Que le King Philipp dont l'alcalinité est considérable se place au point de vue de la température minima et de la température de destruction de sa maltase au voisinage immédiat du blanc des Landes dont l'alcalinité est beaucoup plus faible.

B. — Nous verrons plus loin que les modifications que l'on fait subir à la réaction du milieu influent très nettement sur l'activité de la maltase : ces modifications ne font pas varier le minimum ni l'optimum et n'abaissent pas la température de destruction de l'enzyme.

Stabilité du minimum. — Les espèces de maïs agissant à basse température agissent encore à basse température, si on diminue l'alcalinité du milieu, si on neutralise exactement ou si on rend le milieu légèrement acide, enfin si on augmente l'alcalinité du milieu.

α) *Diminution de l'alcalinité du milieu.* — Extrait de maïs rouge gros. Alcalinité de 10 centimètres cubes d'extrait : 8 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$. On ajoute 11 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$ après addition de 1 0/0 de maltose. Après quarante-huit heures à 15 degrés il y a 17,70 0/0 de maltose d'hydrolysé.

Extrait de Guzco blanc. Alcalinité à l'hélianthine : 9 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$; on ajoute 6 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$. L'hydrolyse atteint 42,85 0/0 après dix-huit heures à 15 degrés.

Dans une deuxième expérience on a ajouté 4 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$. L'hydrolyse du maltose a atteint 37,50 0/0 après dix-huit heures à 13 degrés.

β) *On rend le milieu légèrement acide.* — Extrait de blanc hâtif des Landes ; alcalinité de 10 centimètres cubes : 8 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$; on ajoute 12 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$ (soit 0.098 mgr. de SO^4H^2 pur libre pour 1.000 cmc. d'extrait) à 10 centimètres cubes de macération ;

on additionne de 2 0/0 de maltose. Maltose hydrolysé après seize heures à 15 degrés : 25 0/0.

Extrait de Cuzco blanc. Alcalinité 9 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$, on ajoute 16 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$ (soit 0,471 mgr. de SO^4H^2 pur libre pour 1.000 cmc. de macération maltosée à 1 0/0).

Maltose hydrolysé après trente-six heures à 13 degrés : 53,70 0/0.

γ) On rend le milieu plus alcalin.

Extrait de maïs blanc des Landes additionné de 5 gouttes de $\text{KOHN}/10$ par 10 centimètres cubes. Maltose hydrolysé après vingt-quatre heures à 15 degrés : 75 0/0.

D'autre part les maltases de maïs inactives au-dessous de 20 degrés n'agissent pas à cette température si on modifie la réaction du milieu.

Maïs d'Auxonne. Alcalinité de l'extrait à l'hélianthine : 8 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$. On ajoute 6 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$ à 10 centimètres cubes de macération maltosée à 1 0/0. Après dix-huit heures à 17 degrés l'hydrolyse est nulle.

Maïs jaune des Landes. Alcalinité de l'extrait : 8 gouttes on ajoute 10 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$. Après vingt-quatre heures à 18 degrés l'hydrolyse est nulle.

ε) On ajoute de l'asparagine à l'extrait.

Nous montrerons plus tard que les amino-acides et en particulier l'asparagine modifient notablement l'activité des maltases : elle ne déplace pas le minimum.

Extrait de blanc des Landes additionné de 1 0/0 de maltose et de 2 0/0 d'asparagine. Maltose hydrolysé après vingt-quatre heures à 10 degrés : 10 0/0.

Extrait de jaune des Landes + 1 0/0 de maltose + 1 0/0 d'asparagine.

L'hydrolyse du maltose après quarante-huit heures à 20 degrés est nulle.

Stabilité de l'optimum. — La saturation partielle de l'alcalinité du blanc des Landes ne déplace pas l'optimum de sa diastase. 10 centimètres cubes d'extrait + 4 gouttes de $\text{SO}^{\cdot}\text{H}^2 \text{ N}/10$.

Températures	Maltose hydrolysé en centièmes après trois heures
—	—
35	17,40
40	19,15
45	16,20
50	10,65

Une acidification légère ne déplace pas non plus l'optimum.

Extrait de Blanc des Landes additionné de 10 gouttes de $\text{SO}^{\cdot}\text{H}^2 \text{ N}/10$ par 10 centimètres cubes ; acidité libre de 2 gouttes de $\text{SO}^{\cdot}\text{H}^2 \text{ N}/10$.

Températures	Maltose hydrolysé après quatre heures
—	—
40	20
45	17
50	12

L'optimum de cette maltase n'est pas modifié par addition d'asparagine. On ajoute 2 0/0 d'asparagine à l'extrait contenant 1 0/0 de maltose. Après trois heures l'hydrolyse du maltose atteint :

35 0/0 à 30 degrés ; 44,70 0/0 à 40 degrés ; 17 0/0 à 50 degrés.

L'optimum de la maltase du maïs jaune des Landes n'est pas modifié quand on rend la réaction acide.

Extrait additionné de 12 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$ pour 10 centimètres cubes.

Températures	Hydrolyse du maltose après six heures
—	—
55 degrés	50 0/0
60 —	57
65 —	45

Stabilité du maximum. — L'extrait du maïs blanc des Landes hydrolyse encore le maltose à 60 degrés en milieu nettement acide (12 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$ pour 10 cmc.), Après six heures à cette température nous avons constaté une hydrolyse de 8 0/0 du maltose ajouté à l'extrait dans la proportion de 1 0/0. Nous nous sommes assuré que cette dose d'acide était incapable en l'absence de maltase d'hydrolyser le maltose.

De même l'extrait de jaune des Landes hydrolyse encore le maltose à 80 degrés, quand on a ajouté 12 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2\text{N}/10$ à 10 centimètres cubes d'extrait : après trois heures à 80 degrés l'hydrolyse du maltose atteignait 5 0/0.

Enfin les caractères distinctifs des maltases subsistent après germination des semences.

Nous étudierons plus loin les variations que subit la maltase des semences de maïs au cours de la germination. Nous allons montrer dès maintenant que ce phénomène

biologique si important laisse subsister les différences que nous avons observées entre les maltases des divers maïs.

1° *La maltase du maïs blanc des Landes germé agit à basse température.* Elle agit à 15 degrés et au-dessous.

A. — Extrait de maïs ayant six jours de germination : additionné de 1 0/0 de maltose. Après vingt heures à 8 degrés l'hydrolyse atteint 23,30 0/0.

B. — Même extrait additionné de 1 0/0 de maltose : expérience de soixante-douze heures. La température a varié pendant ce temps de — 2 à + 2 au-dessus de 0 degré ; on constate une hydrolyse de 4,25 0/0 de maltose.

On laisse l'expérience se prolonger pendant quarante-huit heures. La température varie de + 2 à + 4 degrés : nouvelle hydrolyse de 6,40 0/0 de maltose : au total en cinq jours à des températures variant de — 2 à + 4 il y a eu 10,65 0/0 de maltose d'hydrolysé.

Donc même après germination cette maltase agit aux environs de 0 degré ; avec infiniment moins d'activité il est vrai qu'avant germination, puisque après dix heures à + 1 degré l'extrait de maïs non germé avait hydrolysé 40,80 0/0 de maltose.

2° *La maltase de maïs jaune des Landes germé n'agit pas à 20 degrés.*

Macération à 10 0/0 en poids sec.

Durée de la macération vingt-quatre heures.

Durée de la germination	Durée de l'expé- rience	Température	Hydrolyse du maltose
—	—	—	—
2 jours	24 heures	20 degrés	0
5 —	24 —	21 —	0

6 —	48 —	20 —	0
14 —	24 —	20 —	0

3° *Il n'y a pas de changement dans l'optimum :*

Maïs jaune des Landes. Extrait de maïs ayant six jours de germination + 1 0/0 de maltose.

Température de l'expérience	Hydrolyse du maltose après trois heures
-----------------------------	---

—	—
50 degrés	18 0/0
55 —	24
58 —	30
62 —	27

Maïs King Philipp. Extrait de maïs ayant cinq jours de germination + 1 0/0 de maltose.

Température	Hydrolyse du maltose après six heures
-------------	---------------------------------------

—	—
46 degrés	24,30 0/0
50 —	10,80

Autre expérience à 45, 48 et 56 degrés ; l'hydrolyse atteint 20 0/0 à 45 degrés ; 23,60 0/0 à 48 degrés et 8 0/0 à 56 degrés.

L'optimum n'a donc pas varié.

Nous ne concluons pas dès maintenant à la pluralité des maltases (thèse en faveur de laquelle nous produirons d'autres arguments), mais nous pouvons ainsi résumer les expériences que nous venons de rapporter :

1° *La température optima des maltases du maïs n'est pas influencée par la nature et la composition du liquide qui les tient en dissolution ;*

2° *La présence d'un agent nuisible même à dose relative-*

ment élevée, n'abaisse pas la température de destruction des maltases non plus que la température optima de leur action.

Importance de la réaction du milieu dans les phénomènes diastasiques

L'étude de l'influence des acides sur l'activité des diastases fait l'objet de nombreux travaux. Il en résulte que tous les enzymes sont sensibles à cette action des acides. Certains n'agissent même qu'en leur présence, et Gabriel Bertrand a pu édifier une théorie (1), d'après laquelle, si l'association de l'acide chlorhydrique à la pepsine est indispensable pour la digestion des albuminoïdes, c'est l'acide chlorhydrique qui est l'agent d'hydrolyse, la complémentaire active, la pepsine n'étant qu'une complémentaire active venant simplement amplifier la vitesse de réaction.

Sans discuter si l'acide n'est qu'une substance favorisante (comme on le croyait autrefois) ou si c'est à lui qu'il faut rapporter le principal rôle dans l'hydrolyse, nous devons remarquer que les acides peuvent se comporter de deux manières différentes :

1° Ils n'interviennent que pour neutraliser partiellement ou exactement la réaction alcaline du milieu qui contient la diastase ;

2. Ils ont une action spécifique, variable avec la nature

1. Bertrand. *Revue générale des Sciences*, 1905, t. XVI, p. 459.

de l'acide quand on les ajoute à un liquide neutre, on a un liquide alcalin, mais à dose telle que la neutralisation soit dépassée.

C'est ainsi que MM. Maquenne et Roux ont montré que l'on pouvait augmenter considérablement l'activité de l'amylase du malt en neutralisant exactement l'alcalinité de l'empois d'amidon à l'hélianthine et le $\frac{1}{3}$ ou les $\frac{2}{5}$ de l'alcalinité de l'extrait (1).

Fernbach a mis en lumière l'importance de la neutralisation des extraits dans l'action de la diastase protéolytique du malt et dans la coagulation de l'amidon par l'amylcoagulase. Selon cet auteur, l'acide n'agit dans tous ces cas qu'en transformant les phosphates secondaires gênants en phosphates primaires favorisant (2). Les acides deviennent d'ailleurs nuisibles quand la neutralisation est atteinte.

Dans d'autres cas, la présence d'un acide libre sera nécessaire à la manifestation de la présence des diastases ou augmentera considérablement leur activité : on le sait depuis longtemps pour la pepsine ; la lipodiasse du ricin ne peut agir en milieu neutre, l'addition d'un acide est nécessaire (3).

De très faibles quantités d'acide (2 à 4 mgr. pour 1.000 d'acide sulfurique) favorisent l'action de la tréhalase : mais

1. Maquenne et Roux. C. R. 1906, t. CXLII, p. 124.

2. Fernbach. C. R. 1906, t. CXLII, p. 286.

3. Connstein, Hoyer, Wartenberg. *Ber. Deutsch. Chemi Gesell.* t. XXXV, p. 3988, 1902.

une addition de 0 gr. 20 0/00 paralyse presque complètement le ferment (1).

La sucrase agit toujours mieux en milieu acide : et la dose la plus favorable dépend de l'acide employé (2).

L'activité de la lactase des macérations de muqueuse intestinale est favorisée par des doses d'acides acétique et chlorhydrique de 0 gr. 02 à 0 gr. 04 pour 1.000 centimètres cubes (3).

Enfin, pour certaines diastases, des traces d'acide sont nuisibles puisque l'acide sulfurique nuit encore à l'action de la laccase à la dilution de $\frac{1}{100.000.000}$ (4).

Plus particulièrement en ce qui concerne la maltase, Bierry et Terroine (5) montrent que des doses relativement fortes de suc pancréatique normal sont incapables de dédoubler le maltose en vingt heures : des doses relativement faibles de suc légèrement acidifié par l'acide acétique déterminent rapidement l'hydrolyse et transforment l'amidon en glucose.

Ces auteurs constatent en outre que quand l'alcalinité du suc pancréatique a été saturée (moment où la maltase manifeste sa présence) la nature de l'acide entre en jeu plus que l'acidité elle-même ; l'acide acétique est 5 fois

1. Bourquelot. « La Tréhalase », *Bull. Soc. mycologique de France*, 1893, p. 192.

2. Fernbach. Thèse de la Faculté des Sciences, 1890.

3. Bierry, C. R., 1904, t. CXXXIX, p. 381.

4. G. Bertrand, C. R., 1907, t. CXLV, p. 340.

5. C. R., 1905, t. CXXI, p. 146, et C. R., Soc. Biologie, mai et juillet 1905.

moins toxique que l'acide chlorhydrique et l'acide chlorhydrique est moins toxique que l'acide sulfurique et l'acide azotique (1).

Enfin pour la maltase végétale, on admet qu'elle agit très bien en milieu faiblement acide, mais que son action est paralysée par une dose d'acide organique correspondant à deux millièmes d'acide sulfurique (2).

Laborde a établi que les maltases de l'*Aspergillus niger* et du *Penicillium glaucum* sont activées par une légère addition d'acide acétique, lactique, ou succinique (3).

Action de l'acide sulfurique sur les maltases de maïs

Nous avons constaté des différences considérables dans l'action de l'acide sulfurique sur les maltases des différents maïs. L'activation artificielle des extraits (qui sont tous fortement alcalins à l'hélianthine) varie considérablement dans son intensité et même dans son sens avec les espèces étudiées : elles restent sans rapport avec le caractère de maltase haute ou basse qu'elles renferment.

Maïs blanc des Landes. — Alcalinité de 10 centimètres cubes d'extrait obtenu par macération à 10 0/0 ; 8 gouttes de $\text{SO}_4\text{H} \cdot \text{N}/10$.

Nous avons constaté que la neutralisation partielle de l'alcalinité diminuait l'activité de la diastase. Avec 4 gouttes de $\text{SO}_4\text{H} \cdot \text{N}/10$ l'hydrolyse après trois heures n'atteint que 10,85 0/0 alors qu'elle atteignait 38,30 0/0 dans l'extrait sans acide.

1. Bierry et Giaja, C. R., 1906, t. CXLIII, p. 300.

2. Effront, *Les Enzymes*, p. 255.

3. Janvier 1897, p. 33. *Annales de l'Institut Pasteur*.

Ce fait étant inattendu nous avons fait plusieurs expériences analogues.

Dans toutes ces expériences l'alcalinité de l'extrait était de 8 gouttes pour 10 centimètres cubes.

Extrait additionné de 1 0/0 de maltose.

		Maltose hydrolysé 0/0 après 48 heures à 20°
Acide sulfurique	0	100
N/10 en gouttes	2	90
de 5 centigrammes.	7	48
	10	32
Ajouté à 10 cc ³ d'extrait.		

Extrait additionné de 2 0/0 de maltose. Expérience prolongée quatre-vingt-seize heures à 15 degrés.

		Maltose hydrolysé
Acide sulfurique	0	95
N/10 en gouttes	4	85
de 5 centigrammes.	6	69
	8	49
	12	25

Extrait additionné de 1 0/0 de maltose. Expérience de vingt-quatre heures à 25 degrés ;

		Maltose hydrolysé
Acide sulfurique	0	91
N/10 en gouttes de	4	73
5 centigrammes.	14	13
	20	0

Ces résultats nous montrent que :

1° L'activité optima de cette maltase est obtenue quand la réaction est alcaline à l'hélianthine ;

2° L'activité de la maltase diminue quand on diminue l'alcalinité du milieu par addition de SO_4H^2 .

3° Que la maltase continue à agir alors même que le milieu est nettement acide à l'hélianthine et que la quantité de SO^4H^2 pur libre atteint 147 milligrammes pour 1000 centimètres cubes ;

4° Que son activité est détruite quand la proportion de SO^4H^2 libre atteint 294 milligrammes pour 1000 centimètres cubes.

Influence de l'augmentation de l'alcalinité. — Cette maltase, agissant d'autant mieux que la réaction du milieu est plus alcaline, on pouvait supposer qu'on augmenterait l'activité de cet enzyme en augmentant l'alcalinité du milieu.

Nous avons d'abord étudié l'action de la potasse.

Extrait de maïs additionné de 2 0/0 de maltose.

Expérience de 48 heures à 15°
Maltose hydrolysé

KOH N/10 en gout-	0	75 0/0
tes de 5 centigrammes	1	90 0/0
ajouté à 10 cc ³ d'extrait.	2	77 0/0

L'augmentation de l'activité est considérable pour une goutte de KOH.

Une deuxième expérience nous a donné des résultats du même ordre.

Extrait additionné de 2 0/0 de maltose.

Expérience de 24 heures à 15°
Maltose hydrolysé

KOH N/10 en gout-	0	77 0/0
tes de 5 centigrammes	1	83 0/0
ajouté à 10 cc ³ d'extrait.	3	86 0/0
	5	75 0/0

L'addition de très petites doses de KOH, 1 à 3 gout

tes de KOH N/10 par 10 centimètres cubes, ce qui correspond à une addition de 28 à 84 milligrammes pour 1000 centimètres cubes, favorise l'action de la maltase : 5 gouttes est un peu nuisible ; mais cette dose n'empêche pas l'hydrolyse de devenir totale. En laissant l'action diastasique se poursuivre pendant trente heures, après ce premier dosage, à la même température, nous obtenons dans les quatre cas une hydrolyse de 100 0/0.

L'addition de dix gouttes de KOH N/10 à 10 centimètres cubes d'extrait détruit la diastase :

Après quatre heures à 40 degrés l'hydrolyse est nulle. Pour voir si la destruction était définitive, nous avons saturé exactement avec SO^4H^2 N/10 l'alcalinité due à l'addition de potasse puis remis à 40 degrés ; l'hydrolyse était nulle après vingt-quatre heures. Cette maltase est donc détruite par une dose de KOH atteignant 28 centigrammes pour 1000 centimètres cubes.

Action du phosphate disodique. — Nous supposons que l'addition de phosphate disodique, alcalin à l'hélianthine, donnerait des résultats comparables à ceux qui sont obtenus avec la potasse ; il n'en est rien. On a additionné l'extrait d'une solution de phosphate disodique neutralisée à l'hélianthine par son volume de SO^4H^2 N/10.

Extrait + 1 0/0 de Maltose. Expériences de 3 heures à 40 degrés.

Phosphate disodique ajouté en gouttes de 5 centigrammes		Maltose hydrolysé	
—		—	
A	0 goutte	60	0/0
	2 —	62.20	

	3	—	60
<i>B</i>	0	—	75
	1	—	76
	4	—	75

Il n'y a donc pas d'augmentation appréciable. Retenons de ces expériences que cette maltase agit fort bien en milieu alcalin, qu'elle se distingue ainsi complètement de la maltase du suc pancréatique qui ne manifeste son action que quand le milieu est rendu acide.

Maïs jaune des Landes. — Elle se distingue d'ailleurs à ce point de vue de la maltase du jaune des Landes dont l'activité augmente quand on sature partiellement l'alcalinité de l'extrait.

L'alcalinité de cet extrait est de 8 gouttes d'acide sulfurique N/10 pour 10 centimètres cubes.

Expérience de 7 h. 1/2 à 50°
Maltose hydrolysé o/o

Acide sulfurique	0	41
N/10 en gouttes de	2	24
5 centigrammes.	6	53
	12	42

Expérience de 6 heures à 50°
Maltose hydrolysé o/o

	0	21
	2	27
Acide sulfurique	4	42
N/10 ajouté en	6	68
gouttes de 5 cen-	8	38
tigrammes.	14	30
	20	0

Nous voyons que l'optimum est obtenu quand le milieu est encore très légèrement alcalin à l'hélianthine. L'hydrolyse est beaucoup plus faible quand il y a neutralisation

exacte ; la maltase agit encore en milieu nettement acide : une acidité franche lui est même plus favorable que l'alcalinité naturelle. Elle est détruite par 29 centigrammes d'acide sulfurique pour 1.000 centimètres cubes.

Maltase de King Philipp et de l'Auxonne

Les résultats sont du même ordre.

King Philipp. — Alcalinité de 10 centimètres cubes d'extrait : 12 gouttes d'acide sulfurique $N/10$.

Expérience de 5 heures à 40 degrés. Extrait additionné de 2 0/0 de maltose.

	Maltose hydrolysé 0/0	
	0	17
Acide sulfurique	4	26
$N/10$ ajouté en	8	37
gouttes de 5 centi-	12	32
grammes.	14	28
	20	22

L'optimum est obtenu avec 8 gouttes c'est-à-dire quand la réaction est encore légèrement alcaline : comme précédemment la maltase est plus active en milieu nettement acide que si on laisse à l'extrait son alcalinité naturelle.

Auxonne. — Alcalinité de 10 centimètres cubes d'extrait : 8 gouttes de SO^4H^2 $N/10$.

On ajoute 2 0/0 de maltose. Expérience de quinze heures à 50 degrés.

	Maltose hydrolysé	
	0	10,20 0/0
	2	33,25
Acide sulfurique	4	41
$N/10$ ajouté en	6	46
gouttes de 5 centi-	8	43,60
grammes.	12	15,40
	16	0
	20	0

L'optimum est encore en milieu alcalin. Mais cette maltase est détruite par une dose d'acide sulfurique relativement faible : 0 gr. 196 pour 1.000 centimètres cubes.

Dans les quatre espèces de maïs que nous venons d'étudier l'optimum est obtenu quand la réaction est plus ou moins alcaline à l'hélianthine ; il en est tout autrement avec les maïs Cuzco blanc et rouge.

Maïs Cuzco. — Dix centimètres cubes de ces extraits présentent une alcalinité de 9 gouttes de $\text{SO}^4\text{H}^2 \text{N}/_{10}$.

Cuzco blanc. — Expérience de trente-six heures à 13 degrés. Extrait additionné de 2 0/0 de maltose.

		Maltose hydrolysé o/o
	0	18,80
	2	22,45
Acide sulfurique	4	37,55
N/10 ajouté en	6	40,80
gouttes de 5 centigrammes.	8	49
	9	58,15
	12	58,15
	16	53,70

L'optimum est obtenu en milieu neutre ou très légèrement acide (3 gouttes d'acide $\text{N}/_{10}$ libre soit 73 mgr. de SO^4H^2 0/00). Cette maltase agit encore bien en milieu nettement acide (19 mgr. de SO^4H^2 0/00), dose mortelle pour la maltase du maïs d'Auxonne.

Cuzco rouge. — Les résultats sont identiques.

Extrait additionné de 2 0/0 de maltose :

Expérience de vingt heures à 15-16 degrés.

		Maltose hydrolysé 0/0
	0	21,30
	3	31,40
Acide sulfurique	6	42,55
N/10 ajouté en	8	47
gouttes de 5 centigrammes.	9	55,30
	12	55,30
	16	48

La concordance est remarquable : la maltase du maïs Cuzco a son optimum en milieu neutre ou très légèrement acide : la dose d'acide supportée par cette maltase est d'ailleurs très élevée. On peut additionner 10 centimètres cubes d'extrait de Cuzco de 20 gouttes de $\text{SO}_4\text{H}^2 \text{ N}/_{10}$ sans qu'il y ait destruction de la maltase : après deux heures et demie à 45 degrés on constate une hydrolyse de 11 0/0 du maltose. La maltase est détruite par addition de 23 gouttes de $\text{SO}_4\text{H}^2 \text{ N}/_{10}$ soit une acidité libre de 343 milligrammes pour 1.000 centimètres cubes.

Par contre un excès d'alcalinité détruit rapidement cette maltase. Quatre gouttes de $\text{KOH N}/_{10}$ pour 10 centimètres cubes d'extrait empêchent complètement l'hydrolyse du maltose.

En résumé :

1° *Les variations apportées artificiellement à la réaction du milieu modifient considérablement l'activité des maltases du maïs.*

2° *Certaines espèces fournissent des enzymes dont le maximum d'activité s'exerce en milieu franchement alcalin et d'autres en milieu neutre ou très légèrement acide. Ces différences profondes viennent confirmer, ce nous semble, d'une manière indiscutable, notre hypothèse antérieure de la pluralité des maltases.*

Action des amino-acides et des amides sur les maltases de Maïs

Les travaux d'Effront (1) et de Ford et Guthrie (2) ont montré que la présence des amino-acides augmente considérablement l'activité de l'amylase du malt en diminuant l'alcalinité du milieu.

Les amides au contraire se sont toujours montrés nuisibles. Nous avons étudié l'action de ces corps sur les maltases du maïs.

Le Glycocolle, la Leucine, l'Asparagine augmentent l'activité des maltases des maïs Cuzco, Auxonne, Jaune des Landes, Rouge Gros.

Extrait de Cuzco blanc additionné de 1 0/0 de Maltose

Maltose hydrolysé après 5 h. 1/2
à 40 degrés

0	16 0/0
1 0/0 Glycocolle	34,70 —
1 0/0 Leucine	18,30 —
1 0/0 Asparagine	57,15 —

Extrait d'Auxonne + 1 0/0 de Maltose.

Maltose hydrolysé après six heures à 50 degrés

0	10,20 0/0
1 0/0 Glycocolle	26,50 —

1. Effront. — « Conditions chimiques de l'action de l'amylase », C. R., 1892, p. 1324 et « Action des acides amidés, sur l'amylase », *Bul. Soc. Ch.*, 1904.

2. Ford et Guthrie : « Action des amino-acides sur l'extrait de malt », *Journ. Chim. Soc.*, t. LXXXIX. 1906, p. 76.

1 0/0 Leucine	16,30 —
1 0/0 Asparagine	51 —

Extrait du Jaune des Landes + 1 0/0 Maltose

Maltose hydrolysé après cinq heures à 50 degrés.

0	20 0/0
1 0/0 Glycocolle	32 —
1 0/0 Asparagine	40 —

C'est surtout l'asparagine dont la présence est efficace.
Nous avons étudié quantitativement son action.

Auxonne. — Extrait de maïs d'Auxonne ; additionné de 1 0/0 de maltose et d'asparagine.

Asparagine 0/0. — Maltose hydrolysé après sept heures à 50 degrés.

0	18,40 0/0
0.50	24,50 —
1	36,75 —
1.50	42,85 —
2	48,90 —
3	46 —

La dose la plus favorable est de 2 0/0 d'asparagine.

Rouge-gros. — Extrait additionné de 1 0/0 de maltose et d'asparagine.

Asparagine o/o	Maltose hydrolysé o/o après six heures à 40 degrés
0	46,80
1	46,80
2	76,60
3	72,35
5	63,80

L'optimum est atteint avec 2 0/0 d'asparagine.

Maïs jaune des Landes. — Extrait additionné de 1 0/0 de maltose puis d'asparagine.

Asparagine o/o	Maltose hydrolysé après six heures et demie à 50 degrés
—	—
0	23,40
1	34
2	44,60
3	51,60
5	49

L'optimum est atteint avec 3 0/0 d'asparagine.

Donc pour ces trois sortes de maïs c'est aux doses massives de 2 à 3 grammes 0/0 que l'asparagine est la plus efficace.

La faible solubilité de l'asparagine ne permet pas de la faire agir à dose plus élevée ; mais, même à saturation, l'hydrolyse est plus considérable qu'en son absence. Nous avons saturé à 50 degrés l'extrait de maïs jaune des Landes en laissant un excès d'asparagine indissoute : nous avons obtenu une hydrolyse de 45 0/0 alors que sans asparagine l'hydrolyse n'atteignait dans le même temps que 20 0/0.

Maïs King Philipp. — L'asparagine et le glycolle sont sans action sur la maltase du King Philipp.

A. — Glycolle o/o	Maltose hydrolysé o/o après cinq heures à 40 degrés
—	—
0	28
1	27
2	29
B. — Asparagine o/o	Maltose hydrolysé o/o après quatre heures à 40 degrés
—	—
0	21,30
1	22,45
2	21,30
3	20,40
4	21,30
5	20,40

C. — Asparagine o/o	maltose hydrolysé après cinq heures et demie à 40 degrés	
—	—	0/0
0	32	—
0,50	30	—
1	32	—
2	30	—
3	31	—
4	30.50	—

Maïs blanc des Landes. — Nous avons vu plus haut que la maltase de ce maïs diminuait d'activité aussitôt que l'on saturait même partiellement l'alcalinité du milieu. Le glyocolle ne modifie rien à la marche de l'hydrolyse ; avec 2 0/0 de glyocolle l'hydrolyse est la même qu'en l'absence de cet amino-acide : mais l'asparagine est nuisible.

Extrait de maïs blanc additionné de 2 0/0 de maltose et de 1 0/0 d'asparagine. Après deux heures l'hydrolyse atteint 31,50 0/0 dans l'extrait naturel et 21 0/0 dans l'extrait + asparagine.

La nocivité augmente avec la proportion d'asparagine.

Asparagine o/o	Maltose hydrolysé en quatre heures à 40 degrés
—	—
0	39,50 0/0
1	23,70 —
2	18,40 —
3	10 —

Action des amides. — A la dose de 1 0/0 l'urée et l'acétamide se sont montrées sans action sur la maltase des maïs jaune des Landes, Cuzco et Auxonne. L'hydrolyse atteignait la même valeur en présence ou en l'absence de ces amides.

*Action des sels sur la maltase du maïs blanc
des Landes*

Nous n'avons pas étudié systématiquement l'influence des sels sur cette maltase : nous réunissons ici les résultats d'expériences qui ont été faites à l'occasion de l'étude de la maltase du sarrasin.

Action des sels alcalins

Cette maltase est détruite par addition à l'extrait de 1 0/0 de carbonate de Na et de carbonate de K : mais elle supporte très bien la présence de 50 centigrammes pour 100 de sulfite de Na.

Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose. Expérience de deux heures à 18 degrés.

Sulfite de Na o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	54
0,50	52
1	22

Le borate de Na détruit la maltase du sarrasin à la dose de 25 centigrammes 0/0. Une addition de 50 centigrammes 0/0 ne diminue que très peu l'activité de la maltase du maïs blanc des Landes. L'hydrolyse atteint 48 0/0 après vingt heures à 18 degrés au lieu de 54 0/0 en l'absence du borate de soude.

Ces résultats n'ont rien d'inattendu puisque nous avons

vu que cette maltase supportait des doses élevées de KOH et que de petites quantités de cet alcali favorisaient même son action.

Action du sulfate de zinc. — Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose.

Expérience de cinquante minutes à 35 degrés :

SO ⁴ Zn o/o	Hydrolyse du maltose o/o
0	18
0,30	0
0,50	0
1	0
1,50	0

Le sulfate de zinc est mortel à la dose de 30 centigrammes 0/0.

Action du sulfate de cadmium. — Ce sel s'est aussi montré mortel à la dose de 30 centigrammes 0/0.

Action de l'azotate de nickel. — Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose. Expérience de cinquante minutes à 35 degrés.

Azotate de Ni o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	18
0,50	18
1	9
1,50	0

L'azotate de Ni nuit à partir de 1 0/0. Il est mortel à la dose de 1,50 0/0.

Action du sulfate de manganèse. — Extrait additionné de 1 0/0 de maltose. Expérience de une heure et demie à 40 degrés.

Sulfate de manganèse o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	39
0,20	39
0,50	36
1	39
2	36

Nous aurons l'occasion de discuter ces résultats au cours de ce travail : ils apporteront un nouvel appui aux arguments que nous pourrons présenter en faveur de l'hypothèse de la pluralité des diastases.

Variations de la Maltase au cours de la germination des semences de Maïs

L'apparition de l'amylase au début de la germination des graines et son augmentation avec les progrès de la germination est un fait général. Il n'y a ordinairement pas de rapport entre la proportion d'amylase contenue dans la graine au repos et celle qui s'y trouve à un moment quelconque de la période germinative. En est-il de même pour la maltase ?

Les graines que nous avons fait germer ont été au préalable stérilisées par immersion dans une solution de bichlorure de mercure à 1 0/00. On les a ensuite lavées à plusieurs reprises à l'eau distillée stérilisée. Les germinations ont été faites à l'étuve à 30 degrés sur papier maintenu humide et à l'abri de la lumière directe.

Nous avons fait les extraits avec un même nombre de graines : on déduisait de la quantité d'eau à ajouter pour obtenir une macération à 10 0/0, le poids de l'eau absorbée par les graines au cours de la germination : les extraits ont toujours été faits simultanément pour éviter les variations possibles de l'activité diastastique sous l'influence du temps.

Nos expériences ont porté sur les maïs blanc et jaune des Landes et King Philipp. Les résultats que nous a

donnés l'étude du maïs blanc des Landes ont été absolument inattendus.

Germination du maïs blanc. — Nous avons indiqué plus haut qu'un extrait obtenu avec des semences de maïs blanc germé se montrait, à la même température, beaucoup moins actif qu'un extrait à même concentration de maïs non germé, puisqu'en cinq jours, à une température voisine de 0 degré, l'extrait de maïs germé n'hydrolysait que 10,65 0/0 de maltose tandis que l'extrait de maïs non germé hydrolysait 40,80 0/0 de maltose en dix-huit heures. La germination provoque donc une diminution de la quantité de maltase ou un affaiblissement de son activité.

Des expériences faites à des températures différentes nous ont montré l'exactitude de cette assertion.

A. — Extrait de maïs additionné de 1 0/0 de maltose. Expérience de six heures à 30 degrés.

	Maltose hydrolysé o/o
Maïs non germé	80
Maïs ayant 6 jours de germination	45

B. — Expérience de trois heures à 35 degrés.

	Maltose hydrolysé o/o
Maïs non germé	60
Ayant 4 jours germination	30
— 7 — —	16
— 16 — —	6

C. — Extrait additionné de 2 0/0 de maltose.

Expérience de quarante-huit heures à 20 degrés.

	Maltose hydrolysé o/o
Maïs non germé	70,25
Ayant 3 jours germination	35
— 6 — —	24,30
— 10 — —	18,90
— 15 — —	5

La maltase semble donc diminuer au fur et à mesure que la germination progresse.

Germination du maïs King Philipp. — Cette espèce se comporte de tout autre manière ; il n'y a pas de changement dans la proportion de maltase.

Extrait additionné de 1 0/0 de maltose.

Expérience de six heures à 45 degrés.

	Maltose hydrolysé o/o
Maïs non germé	25
Ayant 3 jours germination	23
— 9 — —	24
— 16 — —	27

Germination du maïs jaune des Landes. — Enfin avec cette espèce de maïs il y a d'abord augmentation de la maltase au fur et à mesure des progrès de la germination puis diminution.

Extrait additionné de 1 0/0 de maltose.

Expérience de trois heures à 50 degrés.

	Maltose hydrolysé o/o
Extrait de maïs non germé	15
4 jours germination	30
9 — —	61
12 — —	62
16 — —	45
20 — —	47

En présence de différences aussi profondes on pouvait se demander si ces variations dans la teneur en maltase des maïs germés n'étaient pas plus apparentes que réelles ; on devait donc rechercher si l'on ne pourrait expliquer ces dissemblances par l'apparition au cours de la germination de substances dont la présence augmenterait ou diminuerait l'activité diastasique.

Action retardatrice du glucose. — La proportion de glucose contenue dans les extraits de maïs germés est beaucoup plus considérable que dans les extraits de maïs non germés. Par exemple, après une heure de macération à 10 0/0, 1.000 centimètres cubes d'extrait non germé contenaient 2 gr. 10 de glucose et 1.000 centimètres cubes d'extrait de maïs blanc des Landes ayant treize jours de germination contenaient 4 gr. 10 de glucose : nous avons alors ajouté 2 grammes de glucose 0/00 à l'extrait de maïs non germé, les deux extraits contenaient alors 4 gr. 10 de glucose pour 1.000 centimètres cubes, on les a additionnés de 1 0/0 de maltose et mis à 40 degrés pendant deux heures.

Extrait de maïs non germé contenant
4 gr. 10 de glucose pour 1000 + 1 0/0
maltose.

Extrait de maïs ayant 13 jours de germination
contenant 4 gr. 10 de glucose
pour 1.000 + 1 0/0 maltose.

Maltose hydrolysé

56 0/0

4,50 0/0

L'augmentation de la proportion en glucose n'explique donc pas l'importance de la diminution de l'activité de la maltase. Il aurait d'ailleurs fallu en conclure que la proportion de maltase contenue dans le maïs jaune des Lan-

des germé était supérieure à celle qu'indiquait le résultat de nos expériences.

Rôles des amino-acides. — Un fait frappe immédiatement l'esprit. Si nous nous reportons à l'étude de l'action des amino-acides sur la maltase des différents maïs nous voyons que :

1° L'asparagine nuit à l'action de la maltase du maïs blanc des Landes ;

2° L'asparagine et le glyocolle sont sans action sur la maltase du King Philipp ;

3° L'asparagine et le glyocolle augmentent considérablement l'activité de la maltase du maïs jaune des Landes.

Or, la proportion de maltase augmente chez le maïs jaune germé, reste stationnaire chez le King Philipp, et diminue chez le blanc des Landes.

D'autre part la formation d'amino-acides au cours de la germination des graines et tout particulièrement quand la germination se fait à l'obscurité est un fait général constaté par tous les auteurs.

Si l'azote total ne varie pas tant que la jeune plante se développe (1) exclusivement aux dépens de ses réserves, la matière azotée se transforme, elle passe de l'état colloïdal à l'état dialysable et diffusible : il se forme alors des acides aminés (asparagine, leucine, tyrosine, etc.) dont la proportion augmente d'une manière constante quand la plante germe à l'obscurité, jusqu'à une certaine limite cependant, car l'azote albuminoïde de la graine ne se transforme jamais complètement en azote soluble (2).

1. Schlœsing fils C. R., t. CXX, p. 1278.

2. André. *Chimie végétale*, p. 304.

On pouvait donc rechercher si la variation dans la proportion en maltase n'était pas fonction de l'apparition et de l'augmentation de la teneur en amino-acides.

Recherche de l'asparagine dans le maïs blanc des Landes.

— M. Bréal (1) a montré que, quand on épuisait par l'eau bouillante une matière végétale contenant de l'asparagine, puis que l'on additionnait le liquide obtenu de 5 0/0 d'HCl, et que l'on portait à ébullition avec réfrigérant ascendant pendant trois quarts d'heure, il y avait dédoublement de l'asparagine en AzH^3 et acide aspartique. Il s'est assuré d'autre part que la leucine et la tyrosine ne libéraient pas d'azote quand on les soumettait à un traitement analogue.

Nous avons fait subir ce traitement à 20 graines de maïs blanc des Landes ayant huit jours de germination et pesant 12 grammes. La recherche de l'asparagine a donné un résultat négatif. Nous ne pouvons pas en conclure que, en l'absence d'asparagine, la diminution de la maltase ne saurait être imputable à l'augmentation des acides amidés : le nombre des corps de ce groupe qui prennent naissance dans la germination est considérable et il peut s'en former dont la nocivité est aussi grande que celle de l'asparagine : cependant nous pouvons faire remarquer que nous constaterons dans l'étude de la germination des fruits de sarrasin une diminution de la maltase sans que le rôle des amino-acides puisse être invoqué.

Nous avons recherché sans plus de succès l'asparagine dans le maïs jaune des Landes germé : mais nous avons

1. *Annales agronomiques*, 1900, t. XXVI, p. 7.

obtenu des résultats intéressants en comparant les variations en maltase présentées par ce maïs en germination, avec l'augmentation dans la teneur en amino-acides.

La méthode de dosage des amino-acides que nous avons utilisée est une simplification de celle employée par M. André (1) dans des recherches analogues. Quoique très imparfaite elle permet de constater avec une précision suffisante les variations de l'azote des amino-acides sous l'influence de la germination.

Les expériences ont été faites avec le même nombre de semences. Dix graines de maïs non germé sont finement pulvérisées : on y dose l'azote total par le procédé Kjeldhal ; d'autre part 10 graines de maïs non germé, finement pulvérisées, sont traitées à l'ébullition par 100 centimètres cubes d'eau distillée additionnée de 1 0/0 d'acide acétique : on fait deux épuisements successifs ; les amino-acides entrent en dissolution ; la légumine et l'albumine sont précipitées, on sépare le résidu par filtration et on y dose l'azote total ; la différence entre les deux dosages d'azote total indique la proportion d'azote solubilisé à l'état d'acides.

En même temps on faisait des extraits aqueux de semences à 10 grammes 0/0 (en poids sec). Ces extraits ont été additionnés de 1 0/0 de maltose.

Nous avons rapporté les dosages à 333 graines qui pèsent 100 grammes. Si on rapportait à 100 parties de matière sèche on obtiendrait des résultats inexacts par suite

1. C. R. 1902, t. CXXXIV, p. 996.

de la disparition des hydrates de carbone. Nous avons constaté que l'azote total ne présentait pas de variation sensible au cours de la germination.

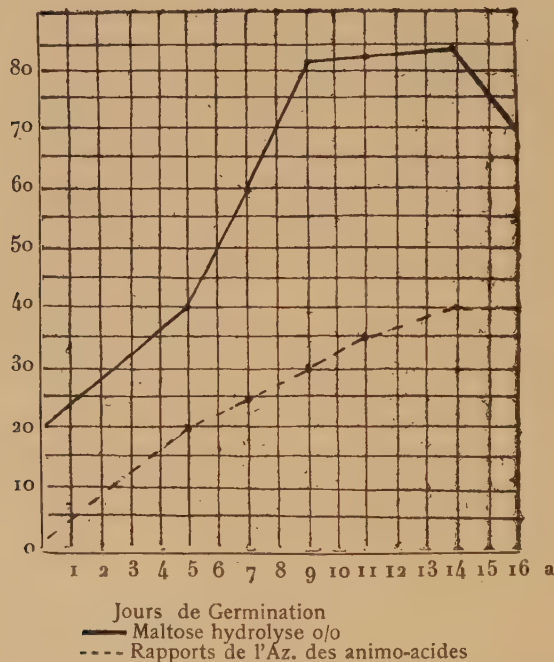
Durée de la germination	Non germé	5	7	9	11	14	16 jours
Poids sec de 333 graines.	100 gr.	97	90	80	76	70	71
Az. total de 333 graines.	1 gr. 50	1,53	1,52	1,55	1,50	1,54	1,55
Azote des acides amidés.	0 gr. 020	0,20	0,25	0,26	0,36	0,40	0,40

Nous ne constatons pas de différence dans la teneur en azote des amino-acides le quatorzième et le seizième jour. En même temps la diminution de poids sec s'est arrêtée : il faut peut-être attribuer ces deux faits à un commencement d'assimilation chlorophyllienne et à une édification d'albuminoïdes aux dépens des amino-acides, assimilation due à l'éclairage qui n'était pas nul et qu'un verdissement de la jeune tige a permis de constater.

L'hydrolyse du maltose par les extraits de maïs germés préparés simultanément a été de :

		Maltose hydrolysé o/o
Extrait des sem. de maïs non germées	20	
— ayant 5 jours de germination	40	
— — 7 —	60	
— — 9 —	82	
— — 11 —	82	
— — 14 —	83	
— — 16 —	70	

Nous rapprochons les résultats dans le graphique ci-dessous dans lequel nous portons en abscisses la durée de la germination et en ordonnées d'une part les proportions de maltose hydrolysé 0/0, d'autre part les rapports de l'azote des amino-acides.



L'examen de ce graphique montre que jusqu'au neuvième jour il y a augmentation simultanée de la teneur des semences en amino-acides et en maltase, l'augmentation est plus importante pour l'activité diastasique que pour la richesse en azote amidé.

Du neuvième au quatorzième jour l'activité de la maltase n'augmente pas sensiblement : la teneur en amino-acides augmente encore.

Du quatorzième au seizième jour bien que la proportion d'acides aminés reste stationnaire, la quantité de maltase diminue. Cette chute de la courbe correspond-elle à l'apparition d'un élément nuisible ou à une diminution réelle de la maltase ? En tous cas et malgré le manque de parallélisme des deux courbes nous croyons que l'augmentation des acides aminés joue un rôle évident dans l'accroissement apparent de la proportion de maltase.

Localisation de la maltase dans les Semences de maïs jaune des Landes

La maltase se trouve-t-elle uniformément répartie dans toute la graine en germination ou sa localisation est-elle possible ? Nous avons fait cette étude avec le maïs jaune des Landes où la proportion de maltase augmente en fait ou en apparence avec la germination. Les semences ont été mises à germer sur papier humide à 30 degrés : après treize jours on a disséqué les plantes dont la tige atteint à ce moment 5 centimètres et les racines 8 centimètres. On a séparé : la tige, les racines, l'embryon (moins les racines et les feuilles), les téguments de la graine avec ce qui reste de l'albumen.

Pour obtenir des extraits de même concentration, on a déterminé la proportion d'eau que perdent les différentes parties de la jeune plante par dessiccation dans le vide sulfurique : on a fait ensuite des extraits à 10 0/0. Ces extraits ont été additionnés de 1 0/0 de maltose et mis à 50 degrés pendant huit heures.

	Maltose hydrolysé o/o
Extrait de tige	26 0/0
— de racines.	34
— d'embryon (sans tige et racines)	34
— d'albumen et téguments	0

L'albumen et les téguments de la graine ne contiennent pas de maltase.

Nous avons fait une expérience identique avec du maïs n'ayant que sept jours de germination. Les extraits ont été additionnés de 1.50 0/0 de maltose et mis à 45 degrés pendant douze heures.

	Maltose hydrolysé o/o
Extrait de tige.	13 0/0
— de racine	18
— d'embryon (sans tige et racines)	20
— d'albumen et de téguments	0

Dans les deux expériences les résultats sont de même ordre : on ne trouve pas de maltase dans l'albumen et les téguments de la graine de maïs germé : la quantité est sensiblement la même dans l'embryon et les racines : il y en a un peu moins dans les feuilles.

Nous avons recherché alors si la répartition de l'amylase était la même en faisant réagir ces extraits sur de l'empois d'amidon à 5 0/0 à 17 degrés. Nous avons établi antérieurement (p. 27) qu'en dessous de 20 degrés l'extrait de maïs jaune des Landes germé ou non germé ne pousse pas l'hydrolyse de l'amidon au delà du stade maltose.

On a ajouté 1 centimètre cube d'extrait à 40 grammes d'empois d'amidon à 5 0/0. L'extrait était obtenu avec du maïs ayant treize jours de germination.

	Extrait de tige	Extrait de racines	Extrait d'embryon	Extrait d'albumen
			filtré assez facilement mais ne	
Après 2 h. à 17°	ne filtre pas	ne filtre pas	contient pas encore de sucre réducteurs	ne filtre pas
Après 6 heures	ne filtre pas	ne filtre pas	13 cgrs. de maltose	ne filtre pas
Après 36 heures	ne filtre pas	6 cgrs.	55 cgrs.	7 cgrs.

Les chiffres indiquent la teneur en maltose de la totalité du liquide.

Dans une deuxième expérience on fait agir 2 centimètres cubes d'extrait sur 40 grammes d'empois d'amidon à 5 0/0.

	Extrait de tige	Extrait de racines	Extrait d'embryon	Extrait d'albumen
Après 5 heures	ne filtre pas	ne filtre pas	24 cgrs.	ne filtre pas
Après 26 heures	ne filtre pas	15 cgrs	86 cgrs.	16 cgrs

Les résultats sont très nets : seule la macération d'embryons (privés de tige et de racines) hydrolyse avec activité l'amidon. L'albumen ne contient que très peu d'amylase : pas plus que les racines. La tige n'en contient pas du tout.

La localisation des deux enzymes n'est donc pas la même : on ne trouve pas de maltase dans l'albumen de la graine ; elle se trouve exclusivement dans l'embryon et les organes qui en proviennent : tige et racines. L'amylase se trouve en plus forte proportion dans l'embryon, mais il y en a un peu dans l'albumen ; il n'y en a pas du tout dans la tige.

Amylo-maltase du Maïs

Nous avons vu en étudiant la maltase du maïs jaune des Landes que cet enzyme n'hydrolysait pas le maltose aux températures inférieures à 20 degrés, et que si on faisait agir l'extrait de ces semences sur l'amidon au-dessous de 20 degrés l'hydrolyse s'arrêtait au stade maltose : que cependant la macération aqueuse obtenue à des températures inférieures à 20 degrés contenait du glucose.

Nous avons établi en outre que ce maïs ne contenait pas de maltase insoluble transformant en glucose au-dessous de 20 degrés le maltose dissout que l'on ajoutait à sa farine (p. 30).

D'où provient donc le glucose que contient la macération ? Il est le résultat de l'activité d'un enzyme non dialysable qui transforme en glucose l'amidon de la graine.

Nous avons constaté en effet que l'apparition de glucose dans la macération de semences de maïs broyées au moulin et son augmentation étaient liées à une diminution graduelle de la proportion d'amidon contenue dans la farine.

On a dosé l'amidon dans 33 graines pesant 10 grammes en employant la méthode de M. Lindet (1) ; 10 grammes

1. « Sur le dosage de l'amidon dans les graines de céréales, » *Journal de pharmacie et de chimie*, t. XLV, 1901, p. 397.

de graines sont broyées au moulin : on dégraisse par l'éther, puis on traite à 40 degrés par la pepsine chlorhydrique en milieu assez chlorhydrique pour empêcher l'action des diastases sur l'amidon. Après vingt-quatre heures on malaxe dans un nouet sous un filet d'eau et l'on recueille l'amidon : on le laisse se déposer dans une fiole conique et on décante après lavages suivis de dépôt ; on verse finalement sur l'amidon une solution sulfurique à 1 0/0 ; on bouche la fiole avec un tampon de coton, on met à l'autoclave à 100 degrés pendant une heure, on sature à la soude, on dose par le Fehling ; nous nous sommes contentés de doser le glucose formé sans faire d'examen polarimétrique ; 10 grammes de semences de maïs contenaient 6 grammes d'amidon. Nous avons ensuite traité 33 graines de maïs broyées au moulin par 100 centimètres cubes d'eau bouillante pour doser le sucre contenu dans le maïs indépendamment de toute action diastasique.

Nous avons trouvé une teneur de 10 centigrammes pour 100 centimètres cubes.

Nous avons alors fait deux macérations de 33 semences de maïs broyées dans 100 centimètres cubes d'eau additionnée de toluène, les macérations ont été prolongées huit jours à la température du laboratoire : 15 degrés ; on a filtré à ce moment le mélange et dosé le glucose contenu dans la macération. Les 100 centimètres cubes contenaient 2 gr. 10 de glucose, il y avait eu formation de

$$2 \text{ gr. } 10 - 0, 10 = 2 \text{ grammes de glucose.}$$

L'autre macération a été filtrée : le résidu après dessiccation a été traité par l'éther et on dose l'amidon comme

précédemment, nous n'avons plus trouvé que 4 grs.40 d'amidon ; il y avait donc eu 1 gr. 60 d'amidon à disparaître et production simultanée de 2 grammes de glucose, il est évident que ce glucose ne provient pas exclusivement de l'amidon ; il doit y avoir une autre réaction qui lui donne naissance, mais il en vient pour la plus grande partie. Il existe donc dans le maïs jaune des Landes une diastase non dialysable qui transforme directement l'amidon en glucose, sans arrêt apparent au stade maltose comme le prouvent l'examen des osazones. Or, si nous examinons les conditions dans lesquelles s'est placé Cuisenier pour constater la présence de « glucase » dans le maïs, nous voyons que sa diastase devait être formée non seulement de maltase soluble, mais encore de cette diastase que nous nommerons amylo-maltase pour spécifier qu'elle transforme directement l'amidon en glucose. Elle se distinguera d'ailleurs des amylo-maltases de Laborde, car, dans les conditions de température dans lesquelles nous avons pu dissocier son action de celle de la maltase, elle ne manifeste son activité que vis-à-vis des substances amylacées, auxquelles elle est intimement associée dans les semences et dont il est impossible de la séparer par épuisement aqueux.

C'est aussi à l'action de l'amylo-maltase que l'on doit attribuer la richesse en glucose de l'extrait de l'albumen de la semence du maïs blanc des Landes ayant treize jours de germination : nous avons vu que cet extrait ne contenait qu'une très faible proportion de maltase et d'amylase : d'autre part si on traite l'albumen séparé de l'embryon par l'eau distillée bouillante pour détruire les diastases, la solution ne contient que des traces de sucres ré-

ducteurs ; enfin si on fait une macération d'une heure d'albumen de ce maïs germé dans l'eau distillée à 15 degrés, l'extrait contient une forte proportion de glucose ; 1 gr.10 pour 100 centimètres cubes d'extrait d'albumen à 10 0/0.

Nous verrons plus loin le rôle joué par l'amylo-maltase au cours de la recherche de la maltase insoluble du maïs blanc des Landes germé.

En résumé cette étude des semences de maïs nous a permis d'établir :

1° Qu'il existait entre les maltases du maïs des différences profondes au point de vue :

α) De la réaction la plus favorable à leur activité (acidité ou alcalinité à l'hélianthine);

β) De l'influence qu'exerce sur leur fonctionnement la présence des amino-acides ;

γ) Des limites de température entre lesquelles elles manifestent leur activité, limites fixes et indépendantes des conditions chimiques du milieu, qui justifient leur division en maltases hautes et maltases basses ;

2° Que l'apparition des amino-acides peut dans une certaine mesure expliquer la variation quantitative que subit la maltase au cours de la germination.

3° Qu'il existe dans les semences de maïs une amylo-maltase non diffusible qui doit jouer un rôle important dans la solubilisation des réserves hydro-carbonées de la graine pendant la germination.

CHAPITRE II

Etude de la maltase du sarrasin

Nous avons recherché la maltase dans la variété de sarrasin dite « argentée ». Les extraits sont obtenus comme pour le maïs en faisant macérer 10 grammes de fruits de sarrasin broyés au moulin dans 100 centimètres cubes d'eau. On filtre après une heure : on obtient un liquide visqueux que l'on ne parvient pas à clarifier complètement même après plusieurs filtrations. Cet extrait contient de la maltase.

On l'a additionné de 1 0/0 de maltose et mis à 40 degrés. Après une heure un quart on constate une hydrolyse de 54,20 0/0 de maltose : après deux heures et demie l'hydrolyse atteint 64,20 0/0.

Il fallait caractériser le sucre produit. Nous en avons fait l'osazone quand il n'y avait plus d'augmentation du pouvoir réducteur ; on a obtenu une osazone se précipitant à chaud, fondant à 230 degrés au bloc Maquenne et présentant au microscope l'aspect de la glucosazone.

La recherche simultanée de l'amylase dans l'extrait de sarrasin non germé a donné un résultat négatif.

Influence de la durée de la macération sur l'activité de

l'extrait. — Nous avons constaté qu'une macération d'une heure donnait un extrait plus actif qu'une macération d'une demi-heure.

Dans le même temps l'hydrolyse du maltose atteint 30 0/0 avec un extrait d'une demi-heure et 39 0/0 avec l'extrait d'une heure.

Mais l'activité de l'extrait n'augmente plus après une heure de macération.

Durée de la macération	Maltose hydrolysé après une heure à 45 degrés
—	—
a) 1 heure	46 0/0
2 heures	44 0/0
b) 1 heure	48 0/0
4 heures	49 0/0

Influence de la dilution de l'extrait sur son activité diastasique. — Nous savons que l'activité d'un extrait est proportionnelle aux quantités de maltase qu'il contient tant que l'hydrolyse du maltose ne dépasse pas 50 0/0 (1) ; nous avons d'ailleurs vérifié cette loi en comparant l'activité de deux extraits : l'un a) obtenu par filtration de la macération à 10 0/0, l'autre b) par mélange à volumes égaux de a) et d'eau distillée. On additionne a) et b) de 1,50 0/0 de maltose, on laisse une heure à 45 degrés : la proportion de sucre hydrolysé doit être moitié moindre en b) qu'en a) ; l'expérience le vérifie : l'hydrolyse atteint 33 0/0 dans un cas et 18 0/0 dans l'autre.

1. Duclaux. *Microbiologie*, t. II, p. 510.

Il n'en est plus ainsi si on compare l'activité de deux extraits obtenus l'un par macération de 10 grammes de farine dans 100 centimètres cubes d'eau, l'autre de 10 grammes de farine dans 200 centimètres cubes d'eau.

L'hydrolyse est loin d'être moitié moindre avec l'extrait au 1/20 qu'avec l'extrait au 1/10.

Extrait additionné de 1,50 o/o de maltose	Maltose hydrolysé après	
	une heure à 40 degrés	une heure à 45 degrés
Extrait à 1/10	30 0/0	39 0/0
— 1/20	26	34

Tout se passe donc comme si la proportion de maltase contenue dans la farine de sarrasin n'était pas une quantité constante indépendante du volume de l'eau employée. La proportion de maltase dissoute augmente si le volume de l'eau augmente.

Comment interpréter ce fait ? Nous savons d'abord qu'il n'y a aucune assimilation possible entre la solubilisation d'un corps chimiquement défini et celle d'une diastase : mais il y a un autre fait. Il est très difficile et même théoriquement impossible d'enlever toute la maltase à la poudre de sarrasin malgré de nombreuses macérations aqueuses ; chaque macération n'enlevant au sarrasin qu'une partie de la maltase qu'il contient.

A. — On fait macérer 10 grammes de sarrasin moulu dans 100 centimètres cubes d'eau ; on filtre après une heure ; onessore à la trompe le résidu de la macération, puis on le lave avec 200, puis 150, puis 150 centimètres cubes d'eau ; les dernières eaux de lavage sont recueillies. Elles contiennent encore de la maltase puisque le

liquide additionné de maltose hydrolyse encore 52 0/0 de ce sucre après huit heures à 40 degrés.

B. — Vingt grammes de sarrasin pulvérisé sont traités par 200 centimètres cubes d'eau pendant une heure ; on filtre ; on recueille le marc ; on le traite à nouveau par 200 centimètres cubes d'eau pendant une heure ; on filtre sur amiante, on lave avec 500 centimètres cubes d'eau. Puis on dessèche le marc dans le vide sulfurique : on fait avec cette poudre desséchée une macération aqueuse à 40 0/0, on filtre, on additionne de 1,50 0/0 de maltose : en vingt-quatre heures à 18 degrés, on constate une hydrolyse de 8,50 0/0 de maltose.

Donc d'une part la richesse en maltase de l'extrait n'augmente plus après une heure ; d'autre part on peut retirer de nouvelles quantités de maltase du résidu de la macération par de nouveaux épuisements aqueux. Ce second fait permet de supposer que la quantité de diastase qui entre en dissolution est fonction non pas du temps mais du volume du liquide auquel la poudre se trouve mélangée ; quand la teneur en diastase atteint une certaine valeur elle n'augmente plus quelle que soit la durée du contact ; une nouvelle quantité de diastase entre au contraire en solution quand on élimine l'extrait en quelque sorte saturé et qu'on le remplace par de l'eau distillée, ou quand le rapport entre le poids de poudre et le volume de l'eau devient plus grand.

Extrait glycériné. — La glycérine permet-elle d'obtenir un extrait plus riche en maltase ?

Les extraits glycérinés sont souvent plus actifs que les

aqueux. Ce dissolvant donne de très bons résultats pour retirer les oxydases de la *Russula delica* et du *Phytolacca decandra* (1). On obtient aussi une solution très active de sucrase en faisant macérer une partie de levure dans deux parties de glycérine (2) Mais la glycérine ne peut être utilisée pour obtenir des extraits de maltase de sarrasin.

Dix grammes de sarrasin pulvérisé sont additionnés de 50 grammes de glycérine ; après trois heures de macération on ajoute 150 grammes d'eau pour pouvoir filtrer le mélange : on obtient ainsi un extrait très limpide mais absolument inactif car, additionné de maltose, il n'y a aucune hydrolyse de ce sucre après deux heures à 45 degrés.

D'où provient cette inactivité ? Elle pourrait être due à l'insolubilité du ferment dans la glycérine ; la présence de la glycérine (à la dose de 25 0/0) suffit à l'expliquer.

Un extrait de sarrasin maltosé à 1,50 0/0 est additionné de 5 0/0 de glycérine : l'hydrolyse n'atteint que 16 0/0 tandis qu'elle est de 53 0/0 dans le même extrait non glycérimé. Une dose de 2 0/0 de glycérine nuit déjà à l'action de la maltase.

Il serait sans doute possible de séparer par la glycérine la sucrase de la maltase de la levure de bière puisque nous avons vu qu'un extrait glycérimé de levure était très riche en sucrase.

Extraits chloroformés. — Lintner et Krøber ont montré

1. C. R. Soc. de Biologie, 8 mai 1897.

2. F. G. Kohl. *Beih. z. bot. Centralbl.* XXIII. 1908, p. 64.

que la présence de chloroforme retardait l'activité de la maltase de la levure.

On peut représenter par 1 et par 0,2 l'activité comparée de l'extrait aqueux et de l'extrait obtenu avec de l'eau saturée de chloroforme. Quelle action le chloroforme a-t-il sur la maltase du sarrasin ? La présence du chloroforme n'empêche pas l'hydrolyse. On a fait macérer 10 grammes de sarrasin dans 100 centimètres cubes d'eau chloroformée à saturation ; après filtration on additionne l'extrait de 1,50 0/0 de maltose : après cinq heures à 46 degrés l'hydrolyse atteint 78 0/0. On a eu soin avant le dosage d'éliminer par ébullition le chloroforme qui réduit la liqueur de Fehling.

Quelle est la diminution de l'activité ? A la même température dans deux essais faits simultanément l'hydrolyse a atteint :

56 0/0 sans chloroforme et	42 0/0 avec chloroforme
56 0/0	40 0/0

Le rapport est de 1 à 0,71. Le chloroforme est donc moins nuisible à la maltase de sarrasin qu'à celle de la levure de bière.

Conditions physiques de l'activité de la maltase

Température minima. — Nous avons constaté d'abord qu'elle agissait à 15 degrés.

Extrait maltosé à 2 0/0. Après trente heures l'hydrolyse atteint 15 0/0.

Elle agit encore à + 5 degrés. Hydrolyse du maltose en dix-huit heures : 12 0/0.

Elle agit encore à + 3. Hydrolyse du maltose en vingt-huit heures : 7,50 0/0.

Elle n'agit plus à 0 degré. Pas d'hydrolyse après vingt-quatre heures.

Cette maltase est donc une maltase basse, mais elle cesse d'agir avant les maltases basses des maïs blanc des Landes et Cuzco.

Limite supérieure d'activité. — Elle agit encore à 65 degrés, l'hydrolyse atteint 27, 80 0/0 en trois heures.

Elle est détruite à 72 degrés. Hydrolyse nulle après deux heures.

Elle agit donc de + 3 à + 70. L'étendue thermique de son activité (67 degrés) est un peu supérieure à celle des maltases de maïs.

Optimum. — Elle agit mieux à 50 degrés qu'à 40. L'hydrolyse est de 50 0/0 à 40, et de 75 0/0 après trois heures à 50 degrés.

Elle agit moins bien à 60 degrés qu'à 50 degrés. Après quatre heures l'hydrolyse est de 57,50 0/0 à 50 degrés et 42,50 0/0 à 60 degrés.

L'optimum est voisin de 55 degrés, car nous avons obtenu une hydrolyse de 30 0/0 à 50 degrés, 34 0/0 à 55 degrés et 18 0/0 à 60 degrés.

Conditions chimiques de l'activité de la maltase
Etude de la réaction du milieu

L'extrait de sarrasin présente une réaction nettement alcaline à l'hélianthine. Nous avons trouvé des différences assez considérables : de 10 gouttes à 13 gouttes de $\text{SO}^{\cdot}\text{H}^2 \text{ N}/10$ pour 10 centimètres cubes d'extrait à 10 0/0. Une première expérience nous a montré que l'activité de la maltase augmentait quand on diminuait l'alcalinité de l'extrait.

Alcalinité à l'hélianthine 10 gouttes. Expérience de trois heures à 40 degrés. L'hydrolyse atteint 70 0/0 quand on ajoute 5 gouttes de $\text{SO}^{\cdot}\text{H}^2 \text{ N}/10$ par 10 centimètres cubes et seulement 50 0/0 avec l'extrait sans acide.

Recherche de la réaction la plus favorable. — Alcalinité de l'extrait : 10 gouttes de $\text{SO}^{\cdot}\text{H}^2 \text{ N}/10$ par 10 centimètres cubes. L'extrait est additionné de 2 0/0 de maltose. Expérience de deux heures à 40 degrés.

$\text{SO}^{\cdot}\text{H}^2 \text{ N}/10$ en gouttes de 5 centigrammes	Maltose hydrolysé en centièmes
0	58
4	63
6	67
8	63
10	57
12	41
16	0

Optimum 6 gouttes.

Extrait de sarrasin additionné de 1.50 0/0 de maltose. Alcalinité de 10 centimètres cubes : 13 gouttes de $\text{SO}^{\cdot}\text{H}^2 \text{ N}/10$.

SO ⁴ H ² N/10 en gouttes de 5 centigrammes	Maltose hydrolysé en centièmes	
0	30	42
6	44	57
10	53	65
12	44	55
16	22	37
20	0	0

Optimum 10 gouttes.

L'optimum est atteint quand l'alcalinité de l'extrait n'est plus que de 4 ou 3 gouttes à l'hélianthine ; nous avons obtenu des résultats du même ordre avec les maltases des maïs jaune des Landes, King Philipp, Auxonne. Mais cette maltase résiste très mal à l'acidité sulfurique ; elle est détruite par 147 milligrammes de SO⁴H² libre pour 1.000 centimètres cubes. Il faut des doses de SO⁴H² libre variant de 196 milligrammes (Auxonne) à 338 milligrammes (Cuzco) pour rendre inactives les maltases des maïs.

Action des différents acides sur la maltase du sarrasin. — Nous venons de voir que quand on modifiait par l'acide sulfurique la réaction naturellement alcaline de l'extrait de sarrasin, la meilleure condition d'activité pour la maltase était une très légère alcalinité à l'hélianthine. Nous avons recherché si la nature de l'acide employé était sans importance, tant que la réaction restait nettement alcaline. Nos expériences ont porté sur des acides de nature très variée : monobasiques, tribasiques ; à fonction simple ou mixte, minéraux ou organiques.

Alcalinité de l'extrait : 11 gouttes de SO⁴H² N/10 pour 10 centimètres cubes. On additionne l'extrait de 1 0/0 de

maltose puis de 6 gouttes de solution N/10 des différents acides. Les chiffres indiquent la proportion de maltose hydrolysé pour 100.

A. — Expérience d'une heure à 40 degrés.

O.....	33 0/0
SO ⁴ H ²	53
Acide formique.....	50
Acide acétique.....	48
Acide monochloracétique....	51
Acide butyrique.....	50
Acide valérianique.....	48

L'addition d'acide sulfurique a été plus efficace. Une deuxième expérience a donné les résultats suivants : Durée : une heure à 46 degrés.

O.....	25 0/0
SO ⁴ H ²	46
Acide formique.....	51
Acide monochloracétique....	48
Acide acétique.....	49
Acide butyrique.....	46
Acide valérianique.....	48

L'addition d'acide sulfurique a été moins utile à l'action diastasique. Si nous prenons les moyennes des deux expériences nous trouvons les valeurs suivantes : 29 0/0 en l'absence d'acides ; 49,50 0/0 avec les acides sulfurique et monochloracétique, 48,50 avec l'acide acétique, 48 avec les acides butyrique et valérianique et 50,50 avec l'acide formique : la concordance est des plus satisfaisantes.

Dans une autre expérience nous avons comparé l'action des acides oxalique, tartrique, citrique : Alcalinité de l'extrait : 11 gouttes de SO⁴H²N/10 ; on ajoute 6 gouttes d'acide N/10.

	Maltose hydrolysé après une heure à 46 degrés	Maltose hydrolysé après 1 h. 1/2 à 50 degrés
O	23 0/0	27 0/0
Acide oxalique.....	43	46
Acide tartrique.....	42	49
Acine citrique.....	44	47

Nous avons enfin comparé l'action aux mêmes doses des acides sulfurique, butyrique, valérianique, tartrique.

Extrait additionné de 6 gouttes de ces acides en solution $\sqrt{10}$ pour 10 centimètres cubes :

	Maltose hydrolysé o/o
Acide sulfurique.....	44
Acide tartrique.....	46
Acide butyrique.....	44
Acide valérianique.....	43

Toutes ces expériences concordent pour montrer que tant que l'alcalinité de l'extrait reste assez considérable (5 gouttes d'acide $\sqrt{10}$ pour 10 cmc.) la nature de l'acide employé pour cette neutralisation partielle est sans importance. Le sel formé n'intervient pas sensiblement pour modifier la marche de l'hydrolyse.

En sera-t-il ainsi quand la neutralisation est atteinte? La toxicité varie-t-elle avec la nature de l'acide? Et pour des acides de même famille, pour les homologues de la série grasse par exemple, la toxicité est-elle fonction du seul élément CO^2H ?

Acide borique. — Une place à part doit d'abord être faite à l'acide borique. Cet acide qui présente une réaction neutre à l'hélianthine s'est montré sans action nuisible sur la maltase du sarrasin à la dose de 4 0/0.

Dubourg avait vu que cet acide ne diminuait pas l'activité de la diastase de l'urine à la dose de 1 0/00. M. Agulhon (1) a montré récemment l'inactivité de l'acide borique sur la pepsine, les peroxydiastases, la papaïne, les amylases végétales. G. Bertrand avait constaté que même à la dose de $\frac{N}{1}$ l'acide borique n'entrave pas l'action de la lacase de *Rhus succedanea* (2).

Acides minéraux. — Nous avons vu qu'une très légère alcalinité à l'hélianthine était la meilleure condition d'activité pour la maltase, quand on ajoutait de l'acide sulfurique à l'extrait : le résultat est le même avec l'acide azotique.

Alcalinité de 10 centimètres cubes d'extrait : 11 gouttes de SO^4H^2 N/10. Expérience de trois heures à 45 degrés.

	Hydrolyse o/o avec : SO^4H^2		Azo^3H
	6	56	55
Acides N/10	8	58	57
en gouttes	10	53	52
de 0,05 cgrs.	16	23	24
	18	0	0

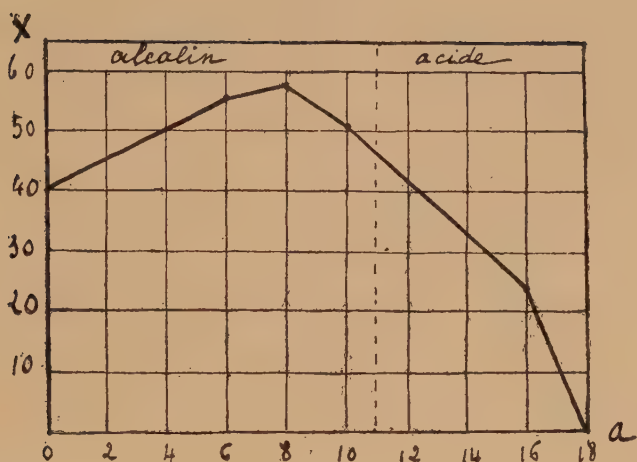
L'hydrolyse atteint 40 0/0 en l'absence d'acides.

Ces deux acides se comportent de même manière : leur toxicité est équimoléculaire ; nous constatons que le maximum étant atteint, il y a diminution dans l'hydrolyse du maltose avant que la neutralisation ne soit complète.

Si nous portons en ordonnées les quantités de maltose hydrolysé pour 100 et en absisses le nombre de gouttes d'acides minéraux N/10 ajoutées à 10 centimètres cubes d'extrait nous obtenons le graphique suivant :

1. C. R., 1909, t. CXLVIII, p. 1341.

2. C. R., 1907, t. CXLV, p. 342.



Influence de la neutralisation de l'alcalinité de l'Extrait et de son acidification par les acides minéraux, sur l'activité de la maltase.

Action des acides organiques. — Les acides organiques se comportent tout différemment : nous ne constatons jamais d'affaiblissement du pouvoir hydrolytique de la diastase quand le milieu, de légèrement alcalin devient neutre ou légèrement acide : une légère acidité se montre même plus favorable. Remarquons d'ailleurs que ces acides ne font pas assez nettement virer l'hélianthine du jaune au rose foncé pour que la neutralisation de l'extrait soit appréciée directement : nous avons donc déterminé dans chaque expérience l'alcalinité à l'hélianthine par l'acide sulfurique N/10 puis opéré ensuite avec des solutions N/10 d'acides organiques.

Action de l'acide formique. — Alcalinité de l'extrait 13 gouttes pour 10 centimètres cubes. Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose. Expérience de deux heures à 45 degrés. Dans toutes ces expériences les chiffres indiquent le maltose hydrolysé 0/0.

Acide formique	0	19
N/10 ajouté en	4	36
gouttes de 5 cen-	6	48
tigrammes.	10	48
	16	51

L'optimum n'est pas encore atteint avec 16 gouttes pour 10 centimètres cubes.

Action de l'acide acétique. — Extrait maltosé à 1,50 0/0. Alcalinité 13 gouttes pour 10 centimètres cubes. Expérience de trois heures à 47 degrés.

Acide acétique	0	24
N/10 en gouttes	4	46
de 5 centigram-	10	58
mes.	16	58

L'optimum n'est pas atteint avec 16 gouttes.

Action de l'acide butyrique. — Alcalinité de l'extrait 13 gouttes pour 10 centimètres cubes. Expérience de trois heures à 45 degrés.

Ac. butyrique	0	45
N/10 en gouttes	6	60
de 5 centigram-	10	61
mes.	16	64
	20	66

L'optimum n'est pas atteint avec 20 gouttes soit une acidité libre de 7 gouttes d'acide N/10.

Action de l'acide valérianique. — 1° Alcalinité de l'extrait : 11 gouttes d'acide N/10 pour 10 centimètres cubes. Expérience de trois heures à 45 degrés.

Acide valéria-		
nique N/10 en	6	42
gouttes de 5 cen-	10	48
tigrammes.	16	57

L'optimum n'est pas encore obtenu avec 16 gouttes : la

deuxième expérience nous montre qu'il n'y a pas encore de diminution appréciable avec 18 gouttes.

2° Alcalinité de 10 centimètres cubes d'extrait : 13 gouttes d'acide N/10. Expérience de deux heures à 50 degrés.

	0	30
Ac.valérianique	6	42
N/10 ajouté en	10	46
gouttes de 5 cen-	12	47
tigrammes.	16	52
	18	51

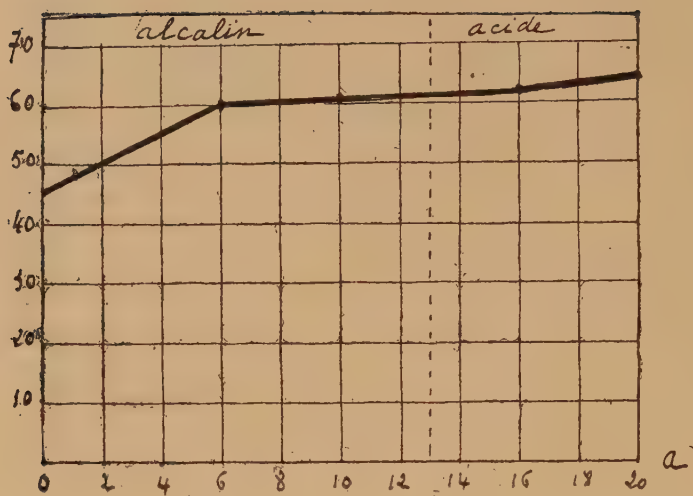
Action de l'acide tartrique. — L'acide tartrique se comporte de même manière.

Alcalinité de l'extrait : 13 gouttes $\text{SO}_4\text{H}^2\text{N}/10$. Expérience de deux heures à 47 degrés.

	0	25
Acide tartrique	6	46
N/10 en gouttes	10	48
de 5 centigram-	12	52
mes.	16	55

Dans tous les cas, un excès de 3 ou 4 gouttes d'acide N/10 (la neutralisation de 10 centimètres cubes d'extrait une fois atteinte) soit une acidité libre de 2 grammes de solution normale d'acide organique par 1000 centimètres cubes, est favorable à l'activité de la diastase.

Si nous portons en ordonnées les quantités de maltose hydrolysé pour 100 et en abscisses le nombre de gouttes d'acide butyrique N/10 ajoutées à 10 centimètres cubes d'extrait, nous obtenons le graphique suivant qui pourrait s'appliquer aux différents acides organiques dont nous avons étudié l'action.



Action des acides organiques sur la maltase du sarrasin

La courbe n'a aucun rapport avec celle qui représente l'action des acides minéraux et il est difficile de concilier des faits si dissemblables avec une théorie générale de l'action des acides sur les diastases : la toxicité des acides minéraux (la neutralisation une fois atteinte) n'a rien d'inattendu : mais comment interpréter la chute de la courbe représentative de leur action alors que la réaction du milieu est encore alcaline à l'hélianthine ?

Nous avons recherché quelle était l'action de l'acide butyrique sur la maltase du maïs jaune des Landes qui avait, elle aussi, son optimum d'action en milieu légèrement alcalin à l'hélianthine quand on additionnait l'extrait d'acide sulfurique.

Action de l'acide butyrique sur l'extrait de maïs jaune des Landes. — Alcalinité à l'hélianthine de 10 centimètres cubes d'extrait : 9 gouttes d'acide N/10. Extrait additionné

de 1,50 0/0 de maltose. Expérience de dix heures à 50 degrés.

	Maltose hydrolysé o/o
0	18,50
2	18,50
4	21,60
Acide butyrique	
N/10 en gouttes	6 35
de 5 centigram-	8 35
mes.	10 45
	12 46
	16 46
	20 44

Tandis que pour un extrait présentant la même alcalinité à l'hélianthine l'optimum était obtenu avec 6 gouttes d'acide sulfurique N/10, l'optimum est atteint ici avec 12 ou 16 gouttes d'acide butyrique N/10, alors que l'acidité libre est de 3 à 7 gouttes d'acide N/10 pour 10 centimètres cubes. Il n'y a donc aucune assimilation à établir entre l'intervention des acides minéraux et organiques agissant comme coenzymes.

Les expériences que nous venons de rapporter prouvent que *tous les acides organiques* favorisent l'action de la maltase quand leur addition ne communique qu'une *faible acidité* à l'extrait : comment agissent-ils à dose beaucoup plus élevée ?

Rappelons d'abord que, d'après Effront (1), l'action de la maltase est paralysée par une dose d'acide organique correspondant à 2 grammes d'acide sulfurique pour 1.000 centimètres cubes.

Action de l'acide butyrique libre. — Nous avons vu que quand on additionnait 10 centimètres cubes d'extrait de

1. Effront. *Les Enzymes*, p. 255.

sarrasin de doses croissantes d'acide butyrique N/10 (de 6 à 20 gouttes), l'optimum n'était pas encore atteint avec 20 gouttes d'acide N/10. Il ne l'est pas encore avec 40 gouttes.

Extrait de sarrasin additionné de 1,50 0/0 de maltose : alcalinité de 10 centimètres cubes d'extrait : 11 gouttes d'acide N/10. Expérience de deux heures et demi à 40 degrés.

		Maltose hydrolysé o/o
Ac. butyrique	40	30
N/10 en gouttes	20	33
de 5 centigram-	30	39
mes.	40	39

Action de l'acide valérianique libre. — Les résultats sont de même ordre avec l'acide valérianique. Une dose de 50, 60, 70 gouttes d'acide valérianique N/10 ajoutée à 10 centimètres cubes d'extrait, favorise encore l'hydrolyse du maltose : l'hydrolyse est la même de 20 à 70 gouttes. Ayant constaté l'innocuité de cet acide à dose élevée nous avons recherché sa toxicité par addition d'acide valérianique pur à l'extrait.

Expérience de une heure à 47 degrés. Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose,

Quantité d'acide valérianique o/oo.	Maltose hydrolysé o/o.
0	39
1 gr. 70	48
5 gr. 10	42
6 gr. 80	30
10 gr. 10	18
11 gr. 90	0

Si nous déduisons de 11 gr. 90 la dose (60 cgr.) qui correspond à la neutralisation à l'hélianthine de 1000 centimètres cubes d'extrait, nous constatons que la maltase du sarrasin n'est détruite que par une dose d'acide valérianique libre atteignant 11 gr. 30 0/00 ; 11 gr. 30 d'acide valérianique correspondent à 5 gr. 40 d'acide sulfurique.

Nous nous sommes assurés qu'en l'absence de maltase, cette dose d'acide valérianique était dans les conditions de l'expérience sans action hydrolysante sur le maltose.

Avant d'étudier l'action d'acides organiques appartenant à d'autres familles nous avons recherché comment se comportaient les homologues inférieurs de l'acide valérianique.

Action comparée de l'acide formique et de l'acide acétique libres. — Alcalinité de l'extrait : 12 gouttes d'acide N/10 pour 10 centimètres cubes.

		Maltose hydrolysé o/o dans l'extrait additionné de	
		Acide formique	Acide acétique
Acides N/10 en			
gouttes de 5 cen-	16	39	40
tigrammes ajou-	20	42	43
tés à 10 cc ³ d'ex-	30	41	43
trait.			

Expérience de trois heures à 46 degrés.

L'acide formique est un peu plus toxique.

Action comparée de l'acide formique et de l'acide valérianique libres. — Expérience de vingt-quatre heures à 13 degrés.

		Maltose hydrolysé o/o dans l'extrait additionné de	
		Acide formique	Acide valérianique
Acide N en gout-			
tes de 5 centi-	5	54	57
grammes ajouté	6	54	58
à 10 cc ³ d'extrait.	7	53	57

Huerre

7

Ici encore l'hydrolyse est un peu plus faible avec l'acide formique ; malgré cela la dose d'acide formique qui peut être ajoutée à l'extrait sans détruire la maltase, n'est pas équimoléculairement inférieure à la dose d'acide acétique et valérianique supportée.

Action comparée des acides butyrique et valérianique libres. — Expérience de deux heures et demie à 40 degrés.

	Maltose hydrolysé o/o dans l'extrait additionné	
	d'acide butyrique	d'acide valérianique
Acide N en gouttes de h centigr.	2	34
ajouté à 10 cc ³ d'extrait.	3	39
	4	39

Action comparée des acides acétique, propionique, valérianique libres. — Nous avons additionné l'extrait d'acide valérianique pur et de solution d'acide acétique et propionique rendues équivalentes par dilution aqueuse.

Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose : Expérience de une heure et demie à 45 degrés.

Nombre de gouttes d'acides ajouté	Maltose hydrolysé par l'extrait additionné d'		
	acide acétique	acide propionique	acide valérianique
1	56	57	55
3	47	48	47
4	36	35	36
6	24	23	23
7	0	0	0

La maltase du sarrasin n'est détruite que quand la dose d'acides organiques de la série grasse atteint N/9 pour

1.000 centimètres cubes en plus de la neutralisation à l'hélianthine.

On ne peut donc dire qu'elle n'agit plus en présence d'une dose d'acide organique correspondant à 2 0/00 d'acide sulfurique soit $\frac{N}{24,50}$ pour 1.000 centimètres cubes.

Si la toxicité de l'acide formique et de ses homologues supérieurs est exclusivement fonction de l'élément $\text{CO}\cdot\text{H}$, il n'en est plus de même pour les autres acides organiques.

Action de l'acide monochloracétique. — L'introduction d'un Cl dans la molécule de l'acide acétique rend ce corps très toxique,

La maltase est détruite par addition de 1 gr. 25 d'acide monochloracétique à 1.000 centimètres cubes d'extrait.

Action de l'acide oxalique. — Nous avons vu que cet acide, ajouté en proportion telle que la neutralisation de l'extrait ne soit pas atteinte, favorisait le fonctionnement de la maltase du sarrasin. Il agit de la même manière quand son addition ne détermine qu'une légère acidité du milieu. Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose.

Expérience de une heure à 45 degrés.

Acide oxalique 0/00	Acide oxalique libre 0/00	Maltose hydrolysé 0/0
0	0	27
0,50	0,20	52
0,75	0,45	15
1	0,70	0

D'abord favorable, cet acide devient vite toxique. La

dose supportée est bien inférieure à celle (1 gr. 83) qui correspond à 2 grammes de SO_4H^2 .

Remarquons que cette action de l'acide oxalique est intéressante car elle montre que la maltase étudiée peut agir en l'absence complète de sels de Ca, qui sont totalement précipités par la quantité d'acide oxalique tolérée.

Action de l'acide tartrique. — Nous avons vu qu'à petites doses (7 gouttes d'acide N/10 libre pour 10 cmc. soit 25 cgr., d'acide libre pour 1.000), l'acide tartrique favorisait le fonctionnement de la maltase du sarrasin. Mais la dose mortelle est beaucoup plus vite atteinte que pour les acides de la série grasse.

Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose.

Expérience de quarante-cinq minutes à 50 degrés.

Acide tartrique o/oo	Acide tartrique libre o/oo	Maltose hydrolysé o/o
0	0	21
0,50	0	51
0,75	0,25	54
1	0,50	36
1,25	0,75	18
1,75	1,25	18
2,25	1,75	0

La maltase est détruite avec une dose d'acide tartrique libre bien inférieure à celle qui correspond à 2 grammes d'acide sulfurique : 1 gr. 75 d'acide tartrique correspond à 1 gr. 14 d'acide sulfurique.

Des expériences analogues ayant porté sur l'acide citrique nous ont montré qu'une addition d'acide citrique de

2 grammes 0/00, correspondant à une dose d'acide citrique libre de 1 gr. 55 retardait beaucoup l'activité de la maltase qui n'agit plus quand la dose d'acide citrique atteint 2 gr. 50 0/00. Cette dose est un peu inférieure à celle (2 gr. 85) qui correspond à 2 grammes d'acide sulfurique.

En résumé :

1° *Quand la neutralisation à l'hélianthine n'est pas atteinte et que l'alcalinité est encore assez considérable*, tous les acides minéraux ou organiques ajoutés en solution équimoléculaire agissent de la même manière en augmentant l'activité de la maltase du sarrasin.

2° *Quand la neutralisation est atteinte et que l'acidité est faible* les acides minéraux manifestent immédiatement leur action nuisible : les acides organiques continuent à activer l'hydrolyse du maltose.

3° *Quand l'acidité augmente* les acides organiques se comportent de deux façons différentes ; les uns (acides de la série grasse) exercent leur action favorisante à dose élevée ; leur toxicité est exclusivement fonction du groupement CO^2H ; ils empêchent le fonctionnement de la maltase à la dose de 1/9 de molécule pour 1.000 centimètres cubes.

Les autres (oxalique, citrique, tartrique) deviennent promptement nocifs : leur toxicité n'est pas équimoléculaire.

Action des alcalis

L'addition de potasse, même à très faible dose, à l'extrait de sarrasin, ralentit l'activité de la maltase.

Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose. Expérience de deux heures à 47 degrés.

		Maltose hydrolysé o/o
	0	37
KOH N/10 ajoutée	1	33
en gouttes de 5 cen-	2	14,80
tigr. à 10 cc ⁵ d'extrait.	3	11
	5	0

La maltase est détruite par addition de 14 centigrammes de KOH à 1.000 centimètres cubes d'extrait.

Action des amino-acides et des amides

La leucine, le glyocolle, l'asparagine, l'acide hippurique ajoutés à l'extrait à la dose de 1 0/0 favorisent l'hydrolyse diastasique du maltose.

Extrait additionné de 2 0/0 de maltose. Expérience de trois heures à 40 degrés.

	Maltose hydrolysé o/o
Sans asparagine.	50
Avec 1 0/0 d'asparagine.	65

Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose. Expérience de deux heures un quart à 47 degrés,

	Maltose hydrolysé o/o
Sans amino acide.	25
Glyocolle 1 0/0.	48
Leucine 1 0/0.	29,60
Acide hippurique 1 0/0	42

Action quantitative du glyocolle. — L'optimum est obtenu avec 2 0/0 de glyocolle. Expérience de deux heures à 45 degrés.

Glycocolle o/o,	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	34,60
1	65
2	73
3	63

Action quantitative de l'asparagine. — Extrait + 1.50 0/0 de maltose ; expérience de deux heures à 45 degrés.

Asparagine o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	22
1	48
2	52
3	59
5	57

Avec 5 0/0 la saturation est atteinte à la température de l'expérience. L'optimum est obtenu avec 3 0/0 d'asparagine.

Action des amides. — La benzamide à saturation est sans action sur la maltase.

L'acétamide active sensiblement à la dose de 1 0/0.

L'hydrolyse a été dans une première expérience de 33,30 0/0 après deux heures et demie à 45 degrés au lieu de 20 0/0 en l'absence d'acétamide ; et de 39 0/0 au lieu de 18 0/0 en l'absence d'acétamide dans une deuxième expérience de quarante-cinq minutes à 50 degrés.

La maltase du sarrasin se distingue à ce point de vue des maltases de maïs qui se sont toujours montrées insensibles à la présence de 1 0/0 d'acétamide.

La dose la plus favorable d'acétamide est de 2 0/0.

Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose. Expérience de deux heures à 45 degrés.

Acétamide o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
1	53,80
2	61
3	50
0	34,60

Expérience de seize heures à 25 degrés.

Acétamide o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	50
1	83
2	90
3	77

Action de l'urée. — Pas d'action à 1 0/0 ; action très faiblement améliorante à 2 et 3 0/0.

Expérience de dix heures à 30 degrés.

Urée o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	52
1	52
2	54
3	53

Dans une autre expérience de vingt heures à 25 degrés, nous avons obtenu une hydrolyse de 69 0/0 sans urée, de 72 0/0 avec 2 0/0 d'urée, et de 73 0/0 avec 3 0/0.

Action des alcools. — Les alcools méthylique, éthylique et amylique sont sans action sur la maltase du sarrasin à la dose de 1 0/0.

L'hydrolyse de la maltase a atteint en deux heures à 45 degrés : 40 0/0 en l'absence comme en présence de 1 0/0 de ces alcools.

Action de la salicine et de la coniférine. — Ces deux glucosides se comportent différemment : nous avons d'abord constaté que l'extrait de sarrasin ne contenait aucune diastase pouvant les hydrolyser.

La coniférine ne retarde pas à la dose de 1 0/0 : la salicine retarde légèrement l'hydrolyse du maltose. En deux heures et demie à 45 degrés on obtient avec 1 0/0 de salicine une hydrolyse de 24 0/0 au lieu de 36 0/0 en son absence.

Action des sels métalliques

Rôle joué par les sels minéraux dans les actions diastatiques. — L'intervention des éléments métalliques dans le fonctionnement des enzymes a été définitivement établie ; leur utilité se manifeste de trois manières différentes :

1° La présence d'un élément métallique est indispensable à l'action diastasique.

Bertrand a établi que le suc de la luzerne est incapable d'oxyder l'hydroquinone : que l'addition de traces de sulfate de manganèse fait apparaître très rapidement des cristaux de quinhydrone, témoin de l'oxydation (1).

La présence de manganèse et de sels alcalins, alcalino-terreux ou magnésiens est indispensable au bleuissement de certains champignons. Le bleuissement des bolets exige le concours de six facteurs différents : l'oxygène et le bolétol, la laccase et le manganèse, l'eau, enfin un métal alcalin, magnésien ou alcalino-terreux (2).

La présence de Ca est indispensable pour transformer en fibrinferment le profibrinferment excrété par les globules blancs du sang (3).

1. G. Bertrand. *Bul. soc. chim.*, 1897, t. XVII, p. 622.

2. G. Bertrand. *C. R.* 1901, t. CXXXIII, p. 1236.

3. Arthus. *Éléments de chimie physiologique*, p. 183. Paris, 1903.

Spitzer a montré que l'activité peroxydiastasique des organes est fonction de la présence du fer (1).

2° L'élément minéral intervient dans la formation du corps résultant de l'action diastasique.

Le calcium est nécessaire pour la formation du précipité de pectate alcalino-terreux résultant de l'action diastasique de la pectase sur la pectine ; la pectase transforme, il est vrai, la pectine en acide pectique en l'absence de sels de Ca (2) mais leur présence est nécessaire pour la manifestation du fonctionnement de la diastase.

3° Le sel métallique augmente l'activité diastasique : soit par la dissociation hydrolytique de sa molécule (et suivant les cas l'élément actif sera l'ion métal ou l'ion acide, soit en provoquant la précipitation d'éléments nuisibles, soit enfin du seul fait de sa présence et sans que le mécanisme de son action puisse être pénétré.

La coagulation diastasique du lait par les présures végétales est accélérée par des doses convenables de chlorure de Na (même à la dose de 80 grammes par litre) (3), de fluorure de Na (4), de phosphate neutre de Na (5), de sulfate neutre et acide de K et de Na (6). L'auteur admet qu'il s'agit d'une action directe de ces corps.

Le chlorure de Na active très nettement la diastase peptonisante des graines (7).

1. Spitzer. *Archiv. für gen. Physiologie*, t. LXVII, p. 615, 1897.

2. Gerbert. C. R. 1902, t. CXXXV, p. 538.

3. Gerbert. C. R. Soc. de Biologie, 1907, p. 578.

4. Gerbert. C. R. Soc. de Biologie. 1907, p. 692.

5. Gerbert. C. R. Soc. de Biologie, nov. 1907, p. 640.

6. Gerbert C. R. Soc. de Biologie, mars 1908, p. 376 et 379.

7. Vines. *Annals of Botany*, t. XXII, p. 106, 1908.

Le chlorure de Na rend son activité à du suc pancréatique dialysé et rendu ainsi inactif vis-à-vis de l'amidon et du maltose. Les auteurs ayant étudié l'action de divers électrolytes croient que la base du sel est indifférente et que l'acide agit seul (1).

Le chlorure de Na accélère notablement l'activité lipasique du suc pancréatique (2).

Le fluorure de Na augmente la vitesse de saccharification des mannanes et galactanes de l'albumen corné des légumineuses par la seminaise (3).

A la dose de 10 0/0 le chlorhydrate d'ammoniaque quintuple l'action de l'invertine (4).

Effront (5) a montré que le phosphate de Ca acide, l'acétate d'alumine, les aluns ammoniacal et potassique augmentent considérablement l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase. Cet effet peut d'ailleurs être expliqué par une diminution de l'alcalinité de l'extrait de malt.

Delezenne (6) a établi qu'à la dose de 1 à 5 0/00 le chlorure de Ca augmente nettement l'activité protéolytique du suc pancréatique : il conclut de ses expériences à la spécificité du calcium qui ne saurait être remplacé par des chlorures de Sr, Ba, Mg. Le calcium est encore actif quand on l'ajoute à des sucs additionnés de Sr Cl^2 , et de Ba Cl^2

1. Bierry et Giaja. C. R., t. CXLIII, 1906, p. 302.

2. Terroine. C. R. mai 1909, p. 1216.

3. Herissey. C. R. 1904, t. CXXXIII, p. 49.

4. O. Nasse. *Pflüger's Archiv*, XIV, 1877, p. 457, d'après Bourquelot. *Les Ferments solubles*, p. 167.

5. Effront. *Les enzymes*, p. 141.

6. C. R. 1905, CXXI, p. 914.

à doses telles que la totalité des carbonates et des phosphates alcalins du suc pancréatique soit précipitée.

C'est un rôle très différent que joue le chlorure de Ca quand on l'ajoute à de l'extrait de malt; il favorise la diastase protéolytique de cet extrait mais indirectement car il emprunte son action favorisante à l'élimination des phosphates nuisibles : il devient en effet nettement retardateur dans le même extrait rendu acide à l'orange (1).

C'est à des phénomènes du même ordre qu'il faudrait attribuer l'action favorable des sulfates de protoxyde et de peroxyde de fer sur la diastase oxydante du malt.

Selon Wolff (2), pour l'extrait de malt, les conditions de réaction les plus favorables à la formation de quinhedrone sont comme lorsqu'il s'agit du fonctionnement de la diastase saccharifiante et de la diastase liquéfiantes contenues dans cet extrait, la neutralité vis-à-vis du méthylorange et toute influence capable d'assurer cette neutralité se trouve favorisante : c'est ce qui explique pourquoi l'addition de $\text{SO}^4 \text{Fe}$ et de $(\text{SO}^4)^2 \text{Fe}^2$ active la formation de quinhedrone tant que le sel ajouté peut réagir avec les sels de l'extrait de malt et en particulier avec les phosphates : dès que le sulfate se trouve en excès son influence gênante se fait sentir.

Enfin, l'addition de sel de manganèse au moût sucré favorise nettement la fermentation alcoolique; le lactate, l'acétate, le sulfate de manganèse se comportent de ma-

1. Fernbach et Hebert. C. R. 1900, t. CXXXI, p. 293.

2. Wolff. C. R. 1908, t. CXLVI, p. 781.

nière presque identique ; mais l'azotate a donné des fermentations très rapides et des disparitions de sucre plus élevées que celles obtenues avec le sulfate : ici l'élément actif est évidemment le manganèse puisque les nitrates sont de très mauvais aliments azotés des levures et que si on remplace le nitrate de Mn par le nitrate de K, la production de l'alcool devient immédiatement inférieure à celle que donne un témoin (1).

Si nous nous sommes étendus un peu longuement sur le rôle des sels dans les actions diastasiques et les interprétations de ce rôle, c'est que nous avons constaté que la présence de certains sels favorise considérablement l'activité de la maltase du sarrasin.

Nous allons d'abord étudier l'action des sels qui sont sans action sur cette maltase et de ceux qui nuisent à son fonctionnement.

A la dose de 1 0/0, *n'exercent pas d'action nuisible* sur la maltase du sarrasin : Salicylate de sodium Chlorure de sodium. Azotate de potasse. Sulfate de magnésie. Azotate d'ammoniaque. Sulfate de zinc. Acétate de zinc.

L'azotate de potasse est nuisible à 2 0/0 ; l'hydrolyse n'atteint que 42 0/0 au lieu de 54 0/0 en son absence ou en présence de 1 0/0 de ce sel.

1. Influence des sels de Mn sur la fermentation alcoolique. E. Kayser et Marchand, C. R., 1907, t. CXLIV, p. 574.

Exercent une action retardatrice dès la dose de 1 0/0

	Maltose hydrolysé dans le même temps
Sans sels.....	32 0/0
Oxalate de potasse.....	16
Oxalate d'ammoniaque.....	21
Chlorate de potasse.....	21
Carbonate d'ammoniaque.....	9
Hyposulfite de soude.....	24
Azotate de soude.....	20
Sulfate d'ammoniaque.....	22
Iodure de potassium.....	22
Chlorhydrate d'ammoniaque.....	26
Azotate de baryum.....	24
Azotate de calcium.....	16
Chlorure de baryum.....	16
Acétate de plomb.....	25
Acétate de cuivre.....	7
Chlorure de zinc.....	8
Nitrate d'urane.....	3

Sels mortels à la dose de 1 0/0

Carbonate de potassium
 Borate de sodium
 Perborate de sodium
 Carbonate neutre de sodium
 Bicarbonate de sodium
 Persulfate de sodium
 Sulfite de sodium

Bi-iodure de mercure

Alun de potasse

Azotate d'argent

Sulfate de cuivre

Nous avons constaté en outre que les carbonates neutres de potassium et de sodium et le borate de sodium sont mortels dès la dose de 25 centigrammes 0/0.

Nous rapprochons ces résultats de ceux qu'a obtenus Dubourg dans son étude de la diastase de l'urine : nous représentons comme dans ses tableaux par 1 l'activité diastasique en l'absence de sels.

Il faut remarquer d'ailleurs que les chiffres qu'il a donnés expriment l'action d'un mélange de diastases (amylase, dextrinase et maltase) sur l'empois d'amidon.

Action des sels sur la diastase de l'urine (Dubourg)		Action des sels sur la maltase du sarrasin	
Chlorure de Na.....	1		1
Chlorhydrate d'ammoniaque	1		0,80
Sulfate de magnésie.....	1		1
Sulfate d'ammoniaque	1		0,73
Hyposulfite de soude.....	1		0,67
Iodure de potassium.....	1		0,73
Oxalate d'ammoniaque.....	0,70		0,69
Oxalate de potasse.....	0,76		0,54
Azotate de potasse.....	0,58		1
Acétate de K.....	0,47		0,26
Chlorate de K.....	0,81		0,69
Borate de sodium.....	0,61		0

Bi-iodure de Hg.....	0,43	0
Sulfite de sodium.....	0,85	0
Bicarbonate de sodium.....	0,81	0
Carbonate de potasse.....	0,15	0
Carbonate de soude.....	0,05	0
Carbonate d'ammoniaque...	0,17	0,28
Salicylate de Na.....	0,08	1
Sulfate de zinc.....	0	1
Acétate de zinc.....	0	1
Chlorure de zinc.....	0	0,25
Sulfate de fer.....	0	1
Sulfate de cuivre.....	0	0
Acétate de Plomb.....	0	0,80
Alun.....	0	0

On peut tirer quelques conclusions générales de l'examen de ce tableau. Les sels alcalins au tournesol (carbonate, sulfite, borate de sodium) qui, à la dose de 1 0/0 n'empêchaient pas le fonctionnement de la diastase de Dubourg sont à la même dose mortels pour la maltase du sarrasin.

Par contre les sels métalliques de zinc, de plomb, de fer entravaient à 1 0/0 toute hydrolyse de l'amidon par la diastase de l'urine. Certains de ces sels ne diminuent pas du tout à cette dose de 1 0/0 l'activité de la maltase du sarrasin. Nous avons examiné si la toxicité des sels (en particulier des sels de Cu et de Zn) n'était pas en rapport avec leur teneur en Cu ou en Zn.

Nous verrons plus loin, à propos de l'étude détaillée des sels de zinc qu'une dose de 2 0/0 de sulfate de zinc ne

nuît pas au fonctionnement de la maltase du sarrasin. Si nous comparons la teneur en métal de l'acétate de Zn $C^4H^6O^4Zn + 3H^2O$ et du sulfate de Zn : $SO^4Zn + 7H^2O$ nous voyons que 1 gr. 66 d'acétate correspond à 2 grammes de sulfate. On ajoute donc ces proportions de sels à de l'extrait de sarrasin additionné de 1,50 0/0 de maltose. En représentant par 1 l'hydrolyse en présence de sulfate de zinc, on obtient 0,29 pour l'extrait contenant l'acétate. L'acétate est donc plus toxique que le sulfate.

Pour le Cu, l'acétate est moins toxique que le sulfate. L'addition de 1 gramme de SO^4Cu à 100 centimètres cubes d'extrait détruit la maltase : une dose d'acétate de Cu équimoléculaire soit 79 centigrammes 0/0 n'empêche pas son fonctionnement ; la dose peut même dépasser 1 0/0 sans qu'il y ait destruction de la diastase.

Extrait + 1 0/0 acétate de Cu + 1,50 0/0 de maltose. Après deux heures et demie à 45 degrés l'hydrolyse atteint 15 0/0. Le sulfate de Cu est donc plus toxique que l'acétate. La toxicité n'est pas fonction de la teneur des sels en métal. Nous en verrons d'ailleurs de nombreuses vérifications au cours des recherches que nous allons maintenant exposer.

Elles se rapportent à des sels dont la présence favorise l'action de la maltase.

Nous nous sommes d'abord assurés :

1° Que le sel était pur, ne contenait pas de sels étrangers ni d'acide libre. Nous avons obtenu des sels très purs en faisant recristalliser les sels purs fournis par le commerce ;

2° Que ces sels étaient en l'absence de maltase, incapables de produire l'hydrolyse du maltose ;

3° Que les sels ne réduisaient pas la liqueur de Fehling. Certains sels la réduisent : on a tenu compte de cette réduction.

Action des sels de zinc. — 1° Sulfate de zinc. — Nous avons constaté dans une première expérience ce fait inattendu que si le sulfate de zinc était sans action sur la maltase du sarrasin aux doses de 1 et de 2 0/0, il augmentait considérablement l'activité de cet enzyme à la dose de 1,50 0/0.

Extrait de sarrasin à 10 0/0. Additionné de 1,50 0/0 de maltose. Expérience de deux heures et demie à 40 degrés.

	Proportion de SO ⁴ Zn ajoutée o/o	Maltose hydrolysé o/o
Représentons		
par A l'hydrolyse	0	39
en l'absence du sel	1	39
de zinc, par B	1,50	51
l'hydrolyse avec	2	40
addition de la dose	3	0
optima de sel de		
zinc.		

Faisons $A = 1$, nous aurons $\frac{A}{B} = \frac{1}{1.30}$.

On obtient une hydrolyse beaucoup plus rapide en présence de 1,50 0/0 de sulfate de zinc, 2 0/0 n'est pas nuisible, 3 0/0 est mortel.

Nous avons vérifié l'exactitude de ces résultats par une seconde expérience de trois heures à 45 degrés.

SO ⁴ Zn ajouté o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	54
1	53,50
1,50	65
2	52

$$\frac{A}{B} = \frac{1}{1.20}$$

Nous avons précisé la dose la plus favorable en nous plaçant dans d'autres conditions de température pour établir la constance du phénomène.

	SO ⁴ Zn o/o	Maltose hydrolysé o/o	
	0	68	
	1	70	
Expérience	1,25	91	$\frac{A}{B} = \frac{1}{1,30}$
de 24 heures	1,50	89	
à 30°	1,75	89	
	2	68	

Expérience d'une heure à 50 degrés.

	SO ⁴ Zn o/o	Maltose hydrolysé o/o	
	0	34	
	1	37	
	1,25	49	$\frac{A}{B} = \frac{1}{1,40}$
	1,75	46	
	2	32	

Tous ces résultats concordent pour montrer que la dose la plus favorable se trouve aux environs de 1 gr. 25 0/0.

Il devenait nécessaire d'étudier l'action de plusieurs sels de Zn pour établir la nature de l'élément utile.

2° *Action de l'azotate de zinc.* — Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose : expérience de une heure à 40 degrés.

Azotate de zinc o/o	Maltose hydrolysé o/o	
0	42	
0,20	52	$\frac{A}{B} = \frac{1}{1,20}$
0,50	52	
0,50	51	
0,75	51	
1	44	
3	0	

L'addition d'azotate de zinc de 0,20 à 0,75 0/0 est efficace.

Action du chlorure de zinc. — Nous avons vu antérieurement que le chlorure de zinc était déjà très toxique à la dose de 1 0/0, l'hydrolyse du maltose a atteint dans ce cas 13 0/0, tandis qu'elle était de 55 0/0 en son absence. Comment ce sel agit-il au-dessous de 1 0/0 ?

Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose.

Expérience de quarante-cinq minutes à 45 degrés.

Chlorure de zinc o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0,15	15
0,30	15
0,60	15
0,75	9
0	15

L'addition de chlorure de zinc est sans action de 0,15 à 0,60 0/0. La nocivité de cet élément se manifeste dès la dose de 0,75 0/0.

Action de l'acétate de zinc. — Nous avons vu que l'acétate de zinc n'était pas nuisible à la dose de 1 0/0 mais sa toxicité augmente rapidement.

A. — Extrait de sarrasin + 1 0/0 de maltose.

Expérience de deux heures et demie à 45 degrés.

Acétate de Zn o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	37
1	37
1,50	9
2	6
3	0

B. — Une dose inférieure à 1 0/0 n'augmente pas la rapidité de l'hydrolyse.

Expérience de deux heures et demie à 45 degrés.

Acétate de Zn o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0,50	38
0,75	38
1	37,50
1,25	28
0	37

Seuls des quatre sels étudiés, le sulfate et l'azotate de Zn favorisent l'action de la maltase.

Etude des sels de cadmium

1° *Action du sulfate de Cd.* — Le sulfate de Cd agit comme le sulfate de zinc.

a) Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose, expérience de une heure et demie à 40 degrés; on l'additionne de 1 0/0 de So^4Cd : l'hydrolyse du maltose atteint 31 0/0 et seulement 20 0/0 en l'absence de ce sel.

b) L'hydrolyse atteint 40 0/0 en présence de 1,25 0/0 de sulfate de cadmium et 24 0/0 sans sulfate de cadmium après deux heures à 45 degrés.

c) Expérience de cinquante-cinq minutes à 45 degrés.

Sulfate de cadmium o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	20
0,50	25
1	41
1,25	41
2	41

$$\frac{A}{B} = \frac{1}{2}$$

de 1 à 2 0/0, le sulfate de cadmium agit de la même manière.

d) Expérience de une heure et demie à 50 degrés.

Sulfate de cadmium o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	30
1	48 $\frac{A}{B} = \frac{1}{1,60}$
1,50	48
2	48
3	48

de 1 à 3 0/0 le sulfate de cadmium a la même action.

c) Expérience de une heure à 45 degrés.

Sulfate de cadmium o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	17
1,50	32,50
5	32,50 $\frac{A}{B} = \frac{1}{1,90}$
10	32,50

La dose excessivement élevée de 10 grammes pour 100 centimètres cubes d'extrait produit la même augmentation dans la rapidité de l'hydrolyse qu'une dose de 1 0/0. En outre le sulfate de cadmium est beaucoup moins toxique que le sel de zinc et sa présence est plus efficace. Le

rapport $\frac{A}{B}$ qui était de $\frac{1}{1,20}$ à $\frac{1}{1,40}$ avec le sulfate de zinc s'élève à $\frac{1}{1,60}$ et $\frac{1}{2}$ avec le sulfate de cadmium.

Action de l'azotate de cadmium. — Extrait de sarrasin + 1 0/0 de maltose. Expérience d'une heure un quart à 40 degrés.

Azotate de cadmium o/o	Hydrolyse du maltose o/o
0	42
0,20	42
0,50	48
1	50
2	40
3	36
5	0

$$\frac{A}{B} = \frac{1}{1,20}$$

L'azotate de cadmium augmente l'activité de la maltase de 0,50 à 1 0/0. Sa toxicité est beaucoup plus grande que celle du sulfate de cadmium.

Action de l'acétate de cadmium. — Expérience de une heure et quart à 50 degrés. Extrait de sarrasin + 1 0/0 de maltose.

Acétate de Cd o/o	Hydrolyse du maltose o/o
0	31
0,50	32
1	31
1,50	18
2	6
3	3
5	0

Pas d'action améliorante. Deuxième expérience de deux heures à 45 degrés.

Acétate de Cadmium o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	39
0,25	37
0,50	40
1	30
1,25	27
1,50	18

Ces deux expériences donnent des résultats analogues : l'acétate de cadmium ne favorise pas l'activité de la maltase : nuisible dès 1 0/0, il est mortel à 5 0/0.

Les sels de cadmium se comportent à l'intensité pris comme les sels de zinc.

Action des sels de nickel. — Nous avons constaté qu'un extrait de sarrasin additionné de 1,50 0/0 de maltose et de 1 0/0 de sulfate de nickel hydrolysait 72 0/0 de maltose après vingt heures à 18 degrés, l'hydrolyse du maltose en l'absence du sel de Ni, n'atteignant que 52 0/0. Nos expériences ont alors porté sur l'action de ce sel à différentes doses.

a) Extrait de sarrasin + 1 0/0 de maltose. Expérience de deux heures et demie à 45 degrés.

Sulfate de Ni o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	42
0,50	68 $\frac{A}{B} = \frac{1}{1,70}$
1	71
1,50	71
2	71

b) Expérience de une heure à 47 degrés.

Sulfate de Ni o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	36
0,15	42
0,30	51 $\frac{A}{B} = \frac{1}{1,40}$
0,50	51
1	51
2	51
3	51

L'accélération de l'hydrolyse est la même en présence de 0 gr. 30 0/0 et de 3 grammes 0/0 de sulfate de nickel.

c) Expérience de cinquante minutes à 45 degrés.

Sulfate de Nickel o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	24
1	39
3	39 $\frac{A}{B} = \frac{1}{1,60}$
5	40
7	39
10	40

Le sulfate de nickel exerce encore son action accélératrice à la dose de 10 0/0, l'hydrolyse est d'ailleurs la même depuis 0 gr. 30 0/0 jusqu'à 10 grammes 0/0. Il se comporte à ce point de vue comme le sulfate de cadmium.

Le rôle joué par ces deux sels à des doses aussi élevées et l'indifférence de la diastase à des variations aussi importantes dans les quantités de sulfates ajoutées à l'extrait, ne s'expliquent pas facilement. On peut les rapprocher de l'action du chlorure de sodium qui même à la dose de 80 grammes pour 1.000 active encore la coagulation du lait par les présures végétales (1) et de ce fait que Javillier (2) a constaté : le zinc favorise le développement des mucédinées, mais ces cryptogames manifestent une parfaite indifférence pour des variations dans la teneur en zinc allant de 1/10 de milligramme à 10 milligrammes.

Action de l'azotate de nickel. — Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose. Expérience de deux heures à 30 degrés.

1. Gerbert, C. R. septembre 1907, p. 577, t. CXLV.

2. C. R., 1907, t. CXLV, p. 1214.

Azotate de Ni o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	30
0,10	33
0,15	39
0,50	48 $\frac{A}{B} = \frac{1}{1,65}$
1	47
2	50
3	50
5	42
10	15

L'azotate de nickel agit comme le sulfate : son action améliorante déjà sensible à 10 centigrammes 0/0 devient maxima de 0,50 à 3 0/0.

Action du chlorure de nickel. — Expérience de quarante-cinq minutes à 45 degrés.

Chlorure de Nickel o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	15
0,20	24 $\frac{A}{B} = \frac{1}{1,60}$
0,35	24
0,70	24
1,45	24
2	21

Le chlorure de nickel a une action favorable de 20 centigrammes à 1 gr. 45 0/0.

Action de l'acétate de nickel. — Extrait de sarrasin + 1, 50 0/0 de maltose. Expérience de deux heures à 30 degrés.

Acétate de Ni o/o	Maltose hydrolysé o/o.
0	30
0,15	21
0,50	21
1	21
2	14

3	13
5	15
10	12

L'acétate de nickel n'active à aucune dose la maltase : déjà nuisible à 15 centigrammes 0/0, sa toxicité n'augmente que peu avec la concentration en sel : l'hydrolyse est sensiblement la même de 2 à 10 0/0.

Donc seuls les sels de nickel à acides minéraux augmentent la rapidité de l'hydrolyse diastasique du maltose.

Action des sels de manganèse. — a) Un extrait de sarasin additionné de 1,50 0/0 de maltose a hydrolysé en présence de 1 0/0 de sulfate de manganèse 75 0/0 de maltose, l'hydrolyse n'atteignant que 40 0/0 dans un extrait sans manganèse.

b) Expérience de cinquante minutes à 45 degrés : extrait additionné de 1,75 0/0 de sulfate de manganèse, l'hydrolyse du maltose atteint 33 0/0 et seulement 15 0/0 en l'absence de manganèse.

c) Expérience de deux heures à 35 degrés. L'hydrolyse du maltose a atteint 50 0/0 en présence de 1 0/0 de sulfate de manganèse et seulement 30 0/0 en son absence.

Il faut tenir compte d'un fait pour le dosage. Les sels manganeux réduisent même à froid la liqueur de Fehling. Si on a soin de se placer dans des conditions strictement identiques de temps, de volume et de température il y a un rapport fixe entre la proportion du sel de manganèse dissous et la quantité d'oxyde cuivreux précipité.

On évalue avant la mise au bain-marie pour chaque mélange la proportion de Cu_2O attribuable à la présence du sel de manganèse.

Nous donnons ci-dessous un exemple de ces dosages.

Extrait additionné de 1,50 0/0 de maltose.

Sulfate de manga- nèse o/o	Dixième de cc ³ de permanga- nate de K cor- respondant à la réduction de la liqueur de Fehling par 2 cc ³ de mé- lange d'extrait maltosé et de sel de manga- nèse avant hydrolyse	Dixième de cc ³ de per- manganate de K après hydrolyse	Dixième de cc ³ représentant l'augmentation du pouvoir réducteur	Hydrolyse o/o du maltose
0	33	43	10	30,30
0,50	36	53	17	51
1	39	57	18	54
1,50	43,5	61	17,5	53
2	48	65	17	51
3	56	72	16	48

Le sulfate de manganèse augmente donc considéra-
ment l'activité de la maltase $\frac{A}{B} = \frac{1}{1,75}$ il y a un maximum
avec 1 à 1,50 0/0.

Action de l'azotate de manganèse. — A la dose de 1 0/0,
après une heure et demie à 35 degrés l'azotate de man-
ganèse fait passer l'hydrolyse du maltose de 36 0/0 sans
sel de manganèse à 48 0/0. Nous avons précisé la dose la
plus favorable. Extrait de sarrasin + 1 0/0 de maltose.
Expérience de une heure à 50 degrés.

Azotate de manganèse o/o	Hydrolyse du maltose o/o
0	33
0,30	39
0,50	41
1	45
1,50	45
2	45
3	36

$$\frac{A}{B} = \frac{1}{1.35}$$

L'azotate de manganèse joue un rôle actif, à partir de 30 centigrammes 0/0 d'extrait, avec optimum de 1 à 2 0/0.

Action du lactate de manganèse. — Expérience de une heure et demie à 35 degrés.

Lactate de manganèse o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	39
0,30	38
0,50	39
1	40
2	27

Le lactate de manganèse n'augmente pas l'activité de la maltase: il est nuisible à la dose de 2 0/0.

Action de l'acétate de manganèse. — Ce sel diminue l'hydrolyse du maltose dès la dose de 30 centigrammes 0/0.

Acétate de manganèse o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	39
0,30	18
0,50	16
1	18
2	12

A aucune dose l'acétate de manganèse n'active la maltase du sarrasin. Donc pour le manganèse comme pour le Zn, Cd, Ni, seuls les sels à acides minéraux (sulfates de Mn, Ni, Cd, Zn, azotates de Mn, Ni, Cd, Zn, Chlorure de Nickel) exercent une action favorable sur l'hydrolyse diastatique du maltose par l'extrait de sarrasin. Les sels organiques: acétates de Ni, Cd, Zn, Mn et lactate de Mn ne jouent jamais ce rôle.

Comment expliquer ces faits ?

L'intervention qualitative et quantitative de l'élément métallique doit être immédiatement mise hors de cause, puisque en ce qui concerne le nickel par exemple, l'acétate de nickel nuit à la dose de 0,15 0/0 alors que le sulfate exerce une action améliorante depuis 0,30 0/0 jusqu'à 10 0/0.

On ne peut non plus expliquer ces faits par une précipitation d'éléments nuisibles : l'addition de sels métalliques à l'extrait de sarrasin détermine effectivement la formation d'un précipité contenant une certaine quantité de métal : mais nous nous sommes assurés que l'addition de 15 centigrammes de sulfate de Ni à 100 centimètres cubes d'extrait était plus que suffisante pour qu'il restât du nickel en solution ; or le sulfate de Ni continue à exercer son influence favorable sur l'action de la maltase à des doses atteignant 10 0/0 : il s'agit donc réellement d'une action produite par le sulfate de nickel libre. Il en est de même pour les sulfates de Cd, de manganèse, de zinc.

Faut-il faire intervenir l'acidité de ces sels ? Bien qu'ayant une composition répondant à celle des sels neutres les sulfates de Cd, de Mn, de Zn, de Ni ont une réac-

tion acide au tournesol. Mais il en est de même pour le sulfate de cuivre et ce sel ne s'est montré à aucune dose capable d'augmenter l'activité de la maltase.

Nous avons d'ailleurs étudié à ce point de vue spécial le sulfate d'alumine : Hébert (1) a montré que la toxicité du sulfate de Mg, du sulfate de Cr, et du sulfate d'alumine étaient en rapport avec le degré d'acidité de ces sels : le sulfate de Mg étant rigoureusement neutre, le sulfate de Cr, légèrement acide, et le sulfate d'Al. très acide, puisque l'acidité de ce sel correspond au tiers de son poids d'acide sulfurique. Quelle est l'action du sulfate d'alumine sur la maltase du sarrasin ?

Extrait ayant une alcalinité de 11 gouttes de SO^{H} $\frac{\text{N}}{10}$ pour 10 centimètres cubes.

Nous avons fait agir sur cet extrait additionné de 1,500/0 de maltose : d'une part, 2, 6, 8 11 gouttes d'acide sulfurique N/10 d'autre part la dose de sulfate d'alumine représentant la même acidité sulfurique.

Acide sulf. N/10 en gouttes de 0 gr. 05	Hydrolyse o/o	Sulfate d'alumine à dose correspondante	Hydrolyse o/o
—	—	—	—
0	36	0	36
2	40	0.147 0/00	37
6	47	0.441 —	35
8	50	0.588 —	37
11	46	0.807 —	36

Les résultats ne sont pas comparables ; le sulfate d'alumine malgré son acidité n'augmente pas la rapidité de l'hydrolyse. L'acidité des sulfates de Ni, Mn, Cd, doit

1. Hébert, C. R. 1907, t. CXLV, p. 337.

cependant jouer un rôle dans l'action qu'ils exercent sur la maltase du sarrasin car en faisant agir ces sels sur la maltase du maïs blanc des Landes, maltase dont l'activité diminue dès qu'on neutralise l'alcalinité à l'hélianthine de l'extrait, nous n'avons jamais obtenu d'accélération de l'hydrolyse (1).

Le sulfate de manganèse est sans action de 0 gr. 20 à 2 grammes 0/0.

L'azotate de nickel est mortel à la dose de 1,50 0/0. Quant aux sulfates de zinc, et de cadmium, une dose de 0 gr. 30 0/0 suffit à empêcher complètement le fonctionnement de la maltase. Ces faits montrent en outre la différence profonde qui existe entre ces deux maltases puisque l'une est détruite par 0 gr. 30 0/0 de sulfate de cadmium tandis que la maltase du sarrasin agit mieux en présence de 10 0/0 de ce sel qu'en son absence. Nous ne trouvons donc pas d'explication satisfaisante à ce rôle des sels que nous venons d'étudier et nous ne pouvons qu'énoncer ce résultat d'expérience :

La présence de certains sels à acides minéraux de zinc de cadmium, de nickel et de manganèse favorise très nettement l'action de la maltase du sarrasin

1. Voir p. 64.

Variation de la maltase du sarrasin pendant la germination.

Les fruits de sarrasin ont été mis à germer à 30 degrés dans une étuve très peu éclairée. Après cinq jours de germination on a fait un extrait à 10 0/0 ; cet extrait a été additionné de 2 0/0 de maltose et mis à 50 degrés pendant deux heures et demie : l'hydrolyse du maltose a été nulle.

Même expérience avec du sarrasin ayant six jours de germination : l'extrait est additionné de 2 0/0 de maltose ; après trois heures et demie à 40 degrés l'hydrolyse est nulle.

Il n'existe donc plus de maltase dans le sarrasin après cinq jours de germination. Cette disparition se fait-elle progressivement ? On a comparé l'activité d'extraits de sarrasin non germés et d'extraits de sarrasin ayant deux et trois jours de germination.

Les extraits sont additionnés de 2 0/0 de maltose ; on met pendant deux heures et demie à 50 degrés,

		Hydrolyse du maltose
		—
Extrait de sarrasin non germé.....		46 0/0
— — — ayant 2 j. de germination....		21
— — — ayant 3 j. —		7

Dans une autre expérience on a comparé l'activité en maltase d'extraits de sarrasin ayant un, deux ou trois jours de germination .

Expérience de deux heures à 50 degrés.

	Maltose hydrolysé
Extrait de sarrasin non germé.....	40 0/0
— — ayant 1 j. de germination....	35 0/0
— — ayant 2 j. —	18 0/0
— — ayant 3 j. —	9 0/0

Il y a donc diminution graduelle de la maltase avec les progrès de la germination : après trois jours la quantité de maltase qui reste est très peu élevée, le cinquième jour l'extrait obtenu par macération aqueuse du sarrasin se montre absolument inactif vis-à-vis du maltose.

Le phénomène observé est analogue à celui qui caractérise la germination du maïs blanc des Landes ; mais pour le sarrasin on ne peut invoquer le rôle joué par les amino-acides qui prennent naissance au cours de la germination, puisque cette maltase agit toujours mieux en présence des acides amidés. Il y a donc disparition réelle de la maltase. Est-ce par insolubilisation, est ce par destruction ? Les expériences que nous rapportons plus loin (page 168) montreront qu'il n'y a pas d'insolubilisation de l'enzyme : il faut donc conclure à sa destruction. Un semblable phénomène n'avait jamais été signalé à notre connaissance et les conclusions qu'il comporterait seraient formellement en contradiction avec ce que nous savons du rôle biologique des diastases des hydrates de carbone pendant la germination des graines, si nous n'avions constaté qu'il existe dans le fruit de sarrasin après la dispari-

tion de la maltase une autre maltase, insoluble celle-là, dont nous allons maintenant étudier les propriétés et qui transforme le maltose en glucose.

Disons en terminant que l'amyrase du sarrasin augmente avec les progrès de la germination : il n'existe pas de quantité appréciable d'amyrase dans le sarrasin non germé. On a fait agir 1 centimètre cube d'extrait sur 40 centimètres cubes d'empois d'amidon à 1.50 0/0 à 50 degrés.

	Après une heure	Après 5 heures	Après 24 heures
Extrait de sarrasin non germé.	Ne filtre pas	Ne filtre pas	Filtre très peu 0 sucres réducteurs.
Extrait de sarrasin ayant 2 j. germ.	Filtre diffi- cilement.	Sucres ré- ducteurs to- taux : 0,10 en maltos.	Sucres ré- ducteurs to- taux 0,55.
Extrait de sarrasin ayant 3 j. germ.	Filtre faci- lement.	Sucres ré- ducteurs to- taux : 0,15	Sucres ré- ducteurs to- taux : 0,54

CHAPITRE III

Maltase insoluble du sarrasin

Nous avons vu que la quantité de maltase contenue dans le fruit du sarrasin diminuait au cours de la germination et qu'il n'en existait plus à partir du cinquième jour. Cette disparition pouvait être attribuée à une insolubilisation de l'enzyme. Nous avons recherché s'il existait de la maltase insoluble dans le sarrasin germé. Nous entendons par enzyme insoluble un enzyme qui n'entre pas en dissolution dans les conditions ordinaires d'épuisement des substances végétales sans faire intervenir une pression supérieure à la pression normale.

Du sarrasin ayant sept jours de germination a été broyé au mortier en présence de sable ; on a fait une macération aqueuse à 18 degrés. L'extrait obtenu a été additionné de 1,50 0/0 de maltose et mis deux heures à 45 degrés. L'hydrolyse a été nulle : le sarrasin ne cède pas de maltase à l'eau distillée après sept jours de germination.

Le résidu de la macération a été exprimé à la trompe ; après expression complète, on dessèche la pulpe à l'étuve à 30 degrés puis dans le vide sulfurique. Après dessiccation on pulvérise au mortier pour obtenir une poudre homogène.

Nous avons alors ajouté 1 gr. 50 de cette poudre à 20 centimètres cubes d'eau distillée contenant 30 centigrammes de maltose : on laisse à 40 degrés pendant quatre heures et demie ; le dosage des sucres réducteurs contenus dans le liquide qui baigne la poudre indique une hydrolyse de 53 0/0 du maltose.

Il aurait pu y avoir une augmentation du pouvoir réducteur due à l'action du ferment sur la poudre fermentaire elle-même : on a donc mélangé 1 gr. 50 de poudre à 20 centimètres cubes d'eau : avant comme après séjour de quatre heures et demie à 40 degrés le liquide ne contenait pas de sucre réducteur.

1° Nous avons ensuite établi :

Que l'hydrolyse du maltose par la pulpe de sarrasin germé était bien due à une action fermentaire.

Nous avons vérifié en effet que si l'on traitait cette poudre par l'eau distillée bouillante, elle n'exerçait plus aucune action sur le maltose.

2° *Que le sucre résultant de l'action de cette poudre sur le maltose était bien du glucose.*

On a mélangé une solution de maltose et de la poudre de sarrasin germé. Le mélange a été laissé à 45 degrés ; on a fait des dosages de quatre heures en quatre heures pour contrôler la marche de l'hydrolyse : l'hydrolyse n'était pas complète après douze heures, après vingt-quatre heures elle atteignait 97 0/0, elle n'a plus augmenté avec le temps. On a alors filtré le mélange et fait l'osazone au bain-marie bouillant ; on a obtenu une osazone cristallisant à chaud, fondant à 229 degrés au bloc Maquenne et ayant les caractères microscopiques de la glucosazone.

La pulpe de sarrasin ayant sept jours de germination contient donc une maltase insoluble à 18 degrés (température de la macération aqueuse) et capable quand on l'ajoute à une solution de maltose de transformer le maltose en glucose.

Une objection se présentait à l'esprit. L'activité de cette maltase à 45 degrés ne résulterait-elle pas d'une solubilisation de l'enzyme à cette température ?

Nous avons alors établi :

a) Que l'eau n'acquerrait pas d'activité diastasique si on faisait macérer à 45 degrés la poudre fermentaire dans l'eau.

b) Que la proportion de maltose hydrolysée à 45 degrés par contact de la poudre fermentaire et de la solution de maltose, n'augmentait pas si on séparait par filtration la poudre et qu'on remettait le filtratum à 45 degrés.

c) Que la poudre fermentaire ayant subi une macération aqueuse à 45 degrés hydrolysait encore le maltose si, après l'avoir séparée et desséchée, on la faisait à nouveau agir sur une solution de maltose.

Voici les expériences qui justifient ces propositions.

On ajoute 50 centigrammes de poudre fermentaire à 10 centimètres cubes d'eau distillée, on laisse une heure à 45 degrés, on filtre alors et on reçoit le liquide filtré dans un flacon placé au bain-marie à 45 degrés pour qu'il ne puisse se produire de précipité de substance active par abaissement de température : on ajoute 1 gr. 50 0/0 de maltose au filtratum ; on met à 45 degrés, on constate que l'hydrolyse est nulle.

On ajoute 50 centigrammes de poudre fermentaire à

10 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0. Après une heure et demie à 45 degrés on filtre ; on dose le maltose hydrolysé. L'hydrolyse atteint 27 0/0. Le liquide filtré est remis à 45 degrés pendant une heure et demie ; un nouveau dosage montre que la proportion de maltose hydrolysé est toujours de 27 0/0.

La poudre fermentaire ayant été une heure au contact de l'eau à 45 degrés est séparée par filtration, recueillie et desséchée : on en prélève alors 25 centigrammes que l'on fait agir pendant une heure et demie à 45 degrés sur 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0, on obtient une hydrolyse de 20 0/0 de maltose.

Donc cette maltase insoluble à 15 degrés ne l'est pas davantage à 45 degrés ; elle agit sans entrer en solution sur le maltose à la solution de laquelle on mélange la poudre qui la contient.

Les diastases insolubles. — Cette notion de diastase insoluble n'est d'ailleurs pas nouvelle.

L'activité de semblables enzymes peut se manifester de deux manières :

1° Certaines diastases n'entrent pas en dissolution et sont en outre incapables d'hydrolyser les corps solubilisés, auxquels on mélange la poudre fermentaire. C'est le cas de la diastase que nous avons étudiée sous le nom d'amylo-maltase ; elle se manifeste au-dessous de 20 degrés, capable de transformer en glucose l'amidon des semences de maïs et est sans action à la même température sur une solution de maltose (V. p. 30) ;

2° La diastase n'entre pas en solution mais elle trans-

forme les corps spécifiques qui à l'état dissous sont ajoutés à la poudre fermentaire.

C'est ainsi qu'agit la *géase* des racines de *Geum urbamum*. L'enzyme ne passe pas en dissolution dans l'eau : les macérations obtenues avec la glycérine, la solution concentrée d'hydrate de chloral sont absolument inactives, mais la poudre fermentaire agit sur le glucoside dissous comme le prouve l'apparition de l'odeur d'essence de girofle (1).

L'*émulsine de lichens* agit de la même manière. Quand on fait macérer dans de l'eau thymolée le lichen broyé avec du sable, le liquide filtré n'agit pas sur l'amygdaline ou du moins met très longtemps à agir ; il n'en est plus de même si le lichen broyé est mis en contact direct avec la solution du glucoside : l'action dans ce cas est beaucoup plus rapide. De même l'*émulsine* entraînée dans une combinaison insoluble avec le tannin garde son action enzymotique (2).

Le macéré de *Russula Queletii* est inactif sur le tréhalose ; la pulpe est active et contient donc de la *tréhalase* insoluble (3).

Un lavage à l'eau des levures de bière n'enlève que la sucrase. Mais en desséchant la levure à l'air et la broyant avec de la poudre de verre, on obtient une poudre qui dédouble le lactose : cette *lactase* ne diffuse pas (4).

1. Bourquelot. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, mai 1905, p. 490, t. XXI.

2. Hérissé. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1898, t. VII, p. 577.

3. Bourquelot. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1905, t. XXI, p. 505.

4. Duclaux. *Microbiologie*, t. II, p. 527.

Enfin la maltase elle-même se trouverait d'après Geduld (1) à l'état insoluble dans l'orge germé.

On connaît donc un certain nombre de diastases insolubles et on peut remarquer que plusieurs d'entre elles se trouvent suivant les cas à l'état soluble ou à l'état insoluble ; il en est ainsi pour la tréhalase, l'émulsine, la maltase : la diastase insoluble est-elle une modification de la diastase soluble et particulièrement en ce qui concerne la maltase du sarrasin, la maltase s'insolubilise-t-elle ? Ou existe-il même avant germination dans les fruits du sarrasin de la maltase insoluble à côté de la maltase soluble ? C'est ce que nous avons recherché.

Les expériences antérieurement rapportées (2) nous ont montré que des lavages aqueux multipliés ne parvenaient pas à débarrasser complètement de maltase la poudre de sarrasin. L'impossibilité de l'élimination totale de la diastase soluble rend difficile la recherche de la diastase insoluble. Nous avons cependant pu établir sa présence de la manière suivante.

On a opéré sur des poudres de sarrasin non germé épuisées aussi complètement que possible par l'eau distillée.

a) On fait macérer 50 centigrammes de poudre de sarrasin non germé dans 10 centimètres cubes d'eau pendant une heure ; on filtre, on additionne de 1,50 0/0 de maltose, on dose les sucres réducteurs, on abandonne vingt-quatre heures à 15 degrés.

b) On fait macérer 50 centigrammes de poudre de

1. Geduld. *Journal de la Distillerie française*, 1891.

2. Page 85.

sarrasin non germé dans 10 centimètres cubes d'eau pendant une heure, on ajoute alors sans filtrer 15 centigrammes de maltose : on dose les sucres réducteurs et on abandonne vingt-quatre heures à 15 degrés, on dose alors en *a* et *b* la quantité de maltose hydrolysé.

Or, nous avons vu que l'activité en maltase d'un extrait de sarrasin n'augmentait plus après 1 heure de macération ; l'hydrolyse en *b* correspond donc à la somme des hydrolyses produites par la maltase soluble et la maltase insoluble ; l'hydrolyse en *a* représente l'hydrolyse produite par la maltase soluble. On trouve 42 0/0 d'hydrolysé en *b* et 8,50 0/0 en *a* ; la différence, soit 33,50 0/0 représente l'hydrolyse attribuable à la maltase insoluble.

Cette expérience avait été faite à 15 degrés, nous en avons fait une seconde à 45 degrés.

a) 50 centigrammes de poudre de sarrasin non germé épuisé par nombreux lavages à l'eau distillée sont additionnés de 10 centimètres cubes d'eau. On met le mélange à 45 degrés pendant une heure, on filtre, on additionne de 1,50 0/0 de maltose, on dose les sucres réducteurs, on laisse à 45 degrés pendant trois heures.

b) 50 centigrammes de poudre sont additionnés de 10 centimètres cubes d'eau, on met le mélange à 45 degrés pendant une heure, on ajoute alors sans filtrer 1,50 0/0 de maltose, on dose les sucres réducteurs, on laisse trois heures à 45 degrés, on dose alors le maltose hydrolysé en *a* et en *b*.

Hydrolyse du maltose en a 2,70 0/0

— — en b 45 0/0

La différence 42,30 0/0 a été hydrolysée par la maltase insoluble.

Il existe donc de la maltase insoluble dans le sarrasin avant germination et la maltase insoluble du sarrasin germé ne provient pas exclusivement de l'insolubilisation de la maltase soluble.

Conditions physiques de l'activité de la maltase insoluble

Action de la chaleur. — Limite inférieure d'activité. —

Les expériences que nous allons rapporter montrent l'identité qui existe entre les maltases insolubles du sarrasin germé et non germé.

La maltase insoluble du sarrasin non germé agit à 15 degrés. Ceci résulte de l'expérience où nous avons établi la présence de maltase insoluble dans le sarrasin non germé.

La maltase insoluble du sarrasin germé agit à 15 degrés.

Cinquante centigrammes de poudre fermentaire sont additionnés de 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0. En vingt-quatre heures à 15 degrés on constate une hydrolyse de 55 0/0. Elle agit encore à 5 degrés ; 50 centigrammes de poudre fermentaire sont ajoutés à 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0 : l'hydrolyse atteint 20 0/0 en vingt-quatre heures à 5 degrés.

Limite supérieure de l'activité. — Il y a lieu de distinguer suivant que la température s'exerce sur la poudre fermentaire sèche ou additionnée d'eau.

La poudre de sarrasin peut être maintenue deux heures

à 100 degrés à l'étuve sans que la maltase insoluble soit détruite.

La température peut être de 108 degrés sans que la maltase insoluble cesse d'agir. La poudre de sarrasin non germé est portée à 108 degrés pendant deux heures. On additionne ensuite 50 centigrammes de cette poudre de 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0 et on met à 40 degrés pendant quatre heures puis à 15 degrés pendant treize heures : l'hydrolyse du maltose atteint 63 0/0.

La poudre de sarrasin germé est portée à 108 degrés pendant deux heures.

Cinquante centigrammes sont ensuite additionnés de 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0, on met à 40 degrés pendant quatre heures puis à 15 degrés pendant treize heures : l'hydrolyse du maltose atteint alors 66 0/0.

La maltase insoluble du sarrasin germé et non germé est détruite par un séjour de deux heures à 112 degrés. L'hydrolyse du maltose est nulle après deux heures et demie à 45 degrés.

La température supportée par la maltase quand la poudre fermentaire est additionnée d'eau est beaucoup moins élevée. Mais cette maltase agit à des températures bien supérieures à celles à laquelle la maltase soluble est détruite.

Nous avons constaté qu'elle agissait à 65 degrés (hydrolyse de 43 0/0 en trois heures à cette température).

Elle agit encore bien à 72 degrés, température de destruction de la maltase soluble : 50 centigrammes de

poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0 : mis à 72 degrés. Après deux heures un quart : hydrolyse de 15 0/0.

Elle agit encore à 75 degrés. Même proportion de poudre fermentaire et de solution de maltose : après trois heures et demie hydrolyse de 18 0/0.

Elle agit encore à 80 degrés.

Cinquante centigrammes de poudre de sarrasin germé + 5 grammes solution de maltose à 1,50 0/0 : on laisse trois heures à 80 degrés puis dix heures à 20 degrés, l'hydrolyse atteint alors 16 0/0.

Cinquante centigrammes de poudre de sarrasin non germé + 5 grammes solution de maltose à 1,50 0/0 ; on laisse trois heures à 80 degrés puis quinze heures à 15 degrés : hydrolyse de 25 0/0.

Elle est détruite à 85 degrés. On laisse deux heures à 85 degrés le mélange de poudre de sarrasin germé et de solution de maltose ; l'hydrolyse est nulle. La maltase insoluble agit donc à une température qui dépasse de 10 degrés centigrades la température de destruction de la maltase soluble.

Optimum de température. — Nous avons vu que la maltase soluble du sarrasin avait son optimum à 55 degrés, il n'y a pas d'optimum précis pour la maltase insoluble.

1° Cinquante centigrammes de poudre sont additionnés de 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0.

Expérience d'une heure.

Températures	Maltose hydrolysé o/o
—	—
20	6
30	10
40	21
50	21
65	18

L'optimum semblait se trouver entre 40 et 50 degrés. Or, nous avons constaté que l'hydrolyse avait la même valeur de 40 à 60 degrés.

2^o Cinquante centigrammes de poudre fermentaire sont additionnés de 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0. Expérience de une heure et demie.

Températures	Hydrolyse o/o
—	—
40	30
50	30
60	30

3^o Cinquante centigrammes de poudre fermentaire sont additionnés de 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0.

Températures	Hydrolyse o/o
—	—
50	42
55	40
60	42

4^o Cinquante centigrammes de poudre fermentaire et 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0.

Après deux heures l'hydrolyse atteint 24 0/0 à 45 degrés, 23 0/0 à 55 degrés.

5° Les expériences précédentes ont été faites avec de la poudre de sarrasin germé : on a utilisé dans celle-ci la poudre de sarrasin non germé, épuisée par macération et lavages aqueux.

Après deux heures l'hydrolyse atteint 33 0/0 à 45 degrés comme à 55 degrés.

L'hydrolyse est donc la même de 40 à 60 degrés, ce n'est qu'au-dessous de 40 degrés et au-dessus de 60 que l'influence de la température se fait sentir.

A quoi faut-il attribuer cette insensibilité à des variations aussi importantes de température?

Et comment expliquer des différences aussi profondes suivant que la diastase entre en solution ou qu'elle reste fixée sur la pulpe végétale?

Faut-il admettre qu'il se passe quelque chose d'analogue à ce que Victor Henry a observé dans l'action de l'invertine sur le saccharose suivant que le ferment est réparti dans la solution de saccharose, ou qu'il se trouve séparé de cette solution par une membrane de gélatine.

Cet auteur a montré que dans ce second cas la réaction est moins accélérée par une élévation de température que lorsqu'il y a mélange du ferment et du sucre.

L'inversion du sucre étant de 1,68 0/0 à 25 degrés et de 3,26 0/0 à 37 degrés (rapport 1,9) quand l'invertine est contenue dans la solution, est de 3,26 à 25 degrés et seulement 4,6 à 37 degrés (rapport 1,4) quand l'invertine est contenue dans la couche de gélatine (1).

Il faudrait alors admettre que la maltase insoluble se

1. V. Henri. C. R., 8 janvier 1906, p. 97, t. CXLII.

trouve exclusivement à l'intérieur de cellules dont les cloisons joueraient le rôle de la membrane gélatineuse et cela n'expliquerait pas encore l'identité complète de la valeur de l'hydrolyse pour des différences de 20 degrés.

Condition chimique de l'activité de la maltase insoluble

L'addition d'acides minéraux ou organiques gêne le fonctionnement de cette maltase.

Acides minéraux. — Un gramme de poudre fermentaire + 10 centimètres cubes de solution de maltose à 1, 50 0/0. Expérience de deux heures à 65 degrés.

SO ⁴ H ² N/10 ajouté à 10 cmc. en gouttes de 5 cgr.	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	24
1	9
2	0
3	0

L'acide azotique agit de même manière: 1 gramme poudre fermentaire + 10 centimètres cubes solution de maltose à 1, 50 0/0. Expérience de une heure et demie à 40 degrés.

Acide azotique N/10 en gouttes de 5 cgr.	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	21
1	10
2	0

Une dose de 2 gouttes d'acide sulfurique ou azotique N/10 par 10 centimètres cubes est mortelle. La maltase soluble supportait une dose plus élevée d'acides minéraux libres : 4 gouttes d'acide minéral N/10 par 10 centimètres cubes en plus de la neutralisation à l'hélianthine.

Acides organiques. — Nous avons établi que la maltase soluble du sarrasin avait son optimum de fonctionnement quand la neutralisation à l'hélianthine atteinte, on rendait le milieu légèrement acide par addition d'acide organique : d'autre part, que la toxicité des acides de la série grasse, du formique au valérianique inclus était exclusivement fonction du groupe carboxyle $\text{CO}^2 \text{H}$.

Il n'en est pas ainsi pour la maltase insoluble ; l'addition d'acide organique, même à faibles doses, diminue l'activité diastasique ; en outre l'acide formique est beaucoup plus toxique que l'acide acétique, qui est lui-même beaucoup plus toxique que les acides butyrique et valérianique.

Action de l'acide formique. — Soixante centigrammes poudre fermentaire + 6 centimètres cubes solution de maltose à 1,500/0. Expérience de une heure et demie à 45 degrés.

Acide formique N/10 en gouttes de 5 cgr.	Maltose hydrolysé o/o
—	—
1	18
5	12
10	7
15	0
0	21

La dose mortelle est de 575 milligrammes pour 1 000,

tandis que la maltase soluble supportait sans être détruite une dose d'acide formique libre de 5 gr. 35 0/00.

Action de l'acide acétique. — L'acide acétique est moins toxique que l'acide formique. Expérience de une heure quarante-cinq à 50 degrés.

Acide acétique N/10 en gouttes de 0,05	Maltose hydrolysé o/o
0	24
10	12
15	6
20	0

Quatre-vingt-cinq centigrammes d'acide acétique libre par litre empêchent l'action de la maltase insoluble : la dose toxique d'acide acétique libre était de 6 gr. 90 pour 1.000 pour la maltase soluble du sarrasin.

Action de l'acide butyrique. — La présence de l'acide butyrique est nuisible au fonctionnement de cette diastase.

Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes solution de maltose à 1,50 0/0 + 20 gouttes d'acide butyrique N/10 ; l'hydrolyse n'atteint que 21 0/0 après deux heures à 45 degrés au lieu de 30 0/0 en l'absence d'acide.

Mais cet acide est moins toxique que l'acide acétique.

Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes solution de maltose à 1,50 0/0.

Température de l'expérience ; 45 degrés.

Acide butyrique N/10 en gouttes de 0,05	Maltose hydrolysé après trois heures	Maltose hydrolysé après cinq heures
—	—	—
0	27	36
5	24	30
10	18	24
15	15	21

Nous avons constaté dans d'autres expériences que la maltase insoluble n'agit plus quand on ajoute la poudre fermentaire à une solution de maltose contenant 6 grammes d'acide butyrique pour 1.000 centimètres cubes. La maltase soluble agissait encore en présence de 10 gr. 20 d'acide butyrique libre pour 1.000 centimètres cubes.

Action de l'acide valérianique. — La présence d'une petite quantité d'acide valérianique diminue l'activité de la diastase, mais la toxicité n'augmente pas rapidement avec la quantité d'acide.

Expérience de une heure quarante-cinq à 50 degrés.

Acide valérianique N/10 en gouttes de 5 centigrammes	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	24
10	16
20	16
30	16
40	16

D'autres expériences nous ont montré que des doses de 8 gr. 50 0/00 ne détruisaient pas la maltase : la dose mortelle est de 10 gr. 20 0/00. Ici il n'y a plus de grande différence entre la dose d'acide valérianique libre supportée par la maltase soluble (11 gr. 30 0/00) et la maltase insoluble.

Ces deux maltases se comportent donc de manière absolument différente. La toxicité des acides de la série grasse vis-à-vis de la maltase insoluble est d'autant plus grande que le poids moléculaire des acides est plus faible. La dose tolérée par la maltase insoluble est, surtout pour les premiers termes de la série (formique acétique), bien inférieure à celle en présence de laquelle la maltase soluble agit encore. Le tableau ci-dessous fait ressortir les différences qui existent à ce point de vue entre les deux maltases.

	Acide formique	Acide acétique	Acide butyrique	Acide valérianiq.
Dose d'acides libres à ajouter à 1.000 cc ³ d'ex- trait pour empêcher le fonctionnement de la maltase soluble.	$\frac{N}{9}$	$\frac{N}{9}$	$\frac{N}{9}$	$\frac{N}{9}$

	Acide formique	Acide acétique	Acide butyrique	Acide valérianiq.
Dose d'acides libres à ajouter à 1.000 cc ³ de solution de maltose pour empêcher le fonctionne- ment de la maltase insolu- ble.	$\frac{N}{80}$	$\frac{N}{70}$	$\frac{N}{14}$	$\frac{N}{10}$

Action de l'acide borique. — Nous avons vu que l'acide borique n'entravait pas l'action de la maltase soluble du sarrasin à la dose de 4 0/0 : il en est tout autrement pour la maltase insoluble : l'action nocive se fait sentir à partir de 2 0/0.

Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1.50 0/0.

Expérience de une heure et demie à 45 degrés.

Acide borique o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	45
1	45
2	39
3	33

Action de l'acide tartrique et de l'acide oxalique. — Ces deux acides ne sont pas mortels pour la maltase insoluble aux doses qui empêchent le fonctionnement de la maltase soluble.

Acide tartrique. — 0 gr. 50 poudre fermentaire + 5 centimètres cubes solution de maltose à 1,50 0/0. Expérience de une heure et demie à 40 degrés.

Acide tartrique pour 1000	Maltose hydrolysé o/o
0	45
1,20	27
1,70	18
1,90	0

La dose mortelle est de 1,90 0/00 elle était de 1 gr. 75 0/00 pour la maltase soluble.

Acide oxalique. — 0 gr. 50 poudre fermentaire + 5 centimètres cubes solution de maltose à 1,50 0/0. Expérience de une heure quarante-cinq minutes à 40 degrés.

Acide oxalique pour 1.000 cmc.	Maltose hydrolysé o/o
0	45
0,50	36
0,75	21
1	0

La maltase soluble n'agissait plus en présence de 0,70 0/00 d'acide oxalique libre.

Ces deux acides mis à part, nous voyons que la maltase

insoluble est beaucoup moins acido-résistante que la maltase soluble.

Action des alcalis. — La maltase insoluble par contre supportera sans cesser de fonctionner une dose d'alcali caustique de beaucoup supérieure à celle qui était mortelle pour la maltase soluble.

Nous avons vu qu'une dose de 5 gouttes de KOH N/10 ajoutée à 10 centimètres cubes d'extrait de sarrasin empêchait l'action de la maltase et qu'une seule goutte de KOH N/10 diminuait beaucoup son activité. (L'hydrolyse tombant de 37 0/0 en l'absence de KOH à 33 0/0.) Il n'en est pas ainsi pour la maltase insoluble.

a) 1 gramme poudre fermentaire + 10 centimètres cubes solution de maltose à 1,50 0/0. Expérience de une heure quarante-cinq minutes à 40 degrés.

KOH N/10 en gouttes de 0 gr. 05	Maltose hydrolysé o/o
0	51
2	50
3	51
5	51

La dose mortelle est très élevée.

b) Un gramme poudre fermentaire + 10 centimètres cubes solution de maltose à 1,50 0/0. Expérience de une heure à 40 degrés.

KOH N/10 en gouttes de 0 gr. 05	Maltose hydrolysé o/o
0	45
6	44
7	45
10	27
12	15
15	0

Quatorze centigrammes de KOH pour 1.000 empêchaient le fonctionnement de la maltase soluble : la maltase insoluble n'est pas détruite par une dose de KOH atteignant 33 centigrammes pour 1.000 centimètres cubes.

Action des amino-acides et des amides. — La présence des amino-acides favorisait l'action de la maltase soluble du sarrasin ; ils agissent de la même manière sur la maltase insoluble.

Action de l'asparagine. — Cinquante centigrammes de poudre fermentaire sont additionnés de 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0 et de dose variable d'asparagine :

Expérience de quatre heures à 35 degrés.

Asparagine o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	39
0,50	45
1	46
1,50	42
2	38

La proportion la plus favorable est de 0,50 à 1 0/0.

Action du glycocolle. — On a obtenu une hydrolyse de 45 0/0 en présence de 1 0/0 de glycocolle et de 39 0/0 en son absence.

Une deuxième expérience a montré que la dose la plus favorable était de 2 0/0.

Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes solution de maltose à 1,50 0/0 : on ajoute des doses variables de glycocolle. Expérience de trois heures à 40 degrés.

Glycocolle o/o.	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	58,80
1	64
2	70
3	60

Action de la leucine. — Sans action à 1 et 2 0/0. Après quatre heures à 35 degrés l'hydrolyse atteint 39 0/0 en l'absence comme en présence de 1 et 2 0/0 de leucine.

Action de l'acide hippurique. — L'acide hippurique augmente l'activité de la maltase soluble du sarrasin ; il nuit au fonctionnement de la maltase insoluble.

A 40 degrés on a obtenu en trois heures une hydrolyse atteignant 30 0/0, en présence de 1 0/0 d'acide hippurique et 40 0/0 en son absence.

L'acide hippurique peu soluble (1 p. 600 d'eau à 15 degrés) ne se dissout pas complètement à cette température, on peut obtenir une dissolution totale en opérant à 55 degrés : la nocivité augmente.

Cinquante centigrammes poudre fermentaire + 5 centimètres cubes solution de maltose à 1.50 0/0.

Expérience de deux heures à 50 degrés.

Sans acide hippurique, l'hydrolyse est de 45 0/0.

Avec 1 0/0 d'acide hippurique l'hydrolyse n'est que de 12 0/0. Ainsi tandis que le glycocolle augmente l'activité de la maltase, l'acide hippurique (benzoate de glycocolle) est nuisible à son fonctionnement ; cela tient évidemment à sa fonction acide : dans le glycocolle $\text{AzH}^2 \text{CH}^2 \text{CO}^2\text{H}$ la nocivité du carboxyle est neutralisée par l'amidogène AzH^2 .

Dans le benzoate de glycocolle $C^6H_5-Co-AzH-CH_2-CO_2H$ l'amidogène est bloqué par le radical benzoïle : ce qui permet à la toxicité du carboxyle de se manifester.

Action des amides.

Acétamide. — L'acétamide augmente la vitesse d'hydrolyse du maltose par la maltase insoluble du sarrasin ; 0 gr. 50 de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0. Expérience de quatre heures à 40 degrés.

Acétamide o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	39
1	54
1,50	52
2	48

L'optimum est obtenu avec 1 0/0 d'acétamide.

Urée. — L'influence de l'urée est moins sensible mais cependant réelle.

Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0. Expérience de quatre heures à 40 degrés.

Urée o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	39
1	42
2	45
3	41

Action des sels. — Nous avons étudié l'influence des sels métalliques sur la maltase insoluble du sarrasin en comparant leur action avec celle qu'ils ont sur la maltase soluble.

1° *Les sels qui à la dose de 1 0/0 ne retardent pas l'hydrolyse du maltose par la maltase soluble du sarrasin sont également sans action sur la maltase insoluble.*

Nous avons vérifié ce fait avec l'azotate de potasse, l'azotate d'ammoniaque, le chlorure de sodium, le sulfate de magnésium et le sulfate de fer.

2° *Certains sels qui à la dose de 1 0/0 exercent une action nuisible sur la maltase soluble sont sans action à cette dose sur la maltase insoluble.* Tels sont : le chlorate de potasse, l'hyposulfite de soude, l'oxalate d'ammoniaque, l'azotate de soude, le chlorure et l'azotate de baryum ; la dose du sel peut d'ailleurs dépasser 1 0/0 sans qu'il y ait retard dans l'hydrolyse.

a) Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0.

Expérience de une heure et demie à 40 degrés.

	Proportion de sel o/o	Maltose hydrolysé o/o
O.....	—	—
Chlorate de potasse...	1	24
—	2	23
—	3	25
Hyposulfite de soude..	1	25
—	2	24
—	3	24

b) Cinquante centigrammes de poudre fermentaire
+ 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0.

Expérience de une heure quarante-cinq à 40 degrés.

	Sel ajouté	Maltose hydrolysé o/o
O.....		30
Azotite de soude.....	2 0/0	30
Chlorure de baryum...	2 0/0	29
Azotate de baryum....	2 0/0	30

Des doses d'azotite de sodium de 3 et 5 0/0 ne sont pas encore mortelles.

Avec 3 0/0 d'azotite de Na on obtient en une heure et demie à 40 degrés une hydrolyse de 42 0/0 et avec 5 0/0 d'azotite de Na en vingt-quatre heures à 15 degrés une hydrolyse de 5 0/0.

3° Certains sels à la dose de 1 0/0 retardent l'hydrolyse du maltose par la maltase insoluble et par la maltase soluble.

Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0. Expérience de deux heures et demie à 42 degrés.

Sels ajoutés à la dose de 1 0/0	Maltose hydrolysé o/o
Acétate de plomb.....	42
— de potasse.....	39
— de calcium.....	48
O.....	69

4° Certains sels sont mortels pour la maltase soluble à des doses auxquelles ils ne le sont pas pour la maltase insoluble.

Le sulfite de sodium et le borate de sodium ne détruisent pas la diastase à la dose de 50 centigrammes 0/0 de solution de maltose.

Le borate de soude n'est pas encore mortel à la dose de 0,75 0/0 ; 50 centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes solution de maltose à 1,50 0/0 + 37 milligr. 5 de borate de Na. Après une heure et demie à 40 degrés, l'hydrolyse du maltose atteint 7 0/0.

La maltase insoluble supporte donc des doses de sels alcalins au tournesol qui ne sont pas tolérées par la maltose soluble ; nous avons vu d'ailleurs qu'elle agissait encore en présence de doses élevées de KOH. †

5° *Sels de cuivre et de mercure.*

Sels de cuivre. — L'acétate de cuivre mortel à la dose de 1 0/0 ne l'est pas à la dose de 0,50 0/0. Après une heure et demie à 40 degrés, l'hydrolyse du maltose atteint 12 0/0 en milieu contenant 50 centigrammes d'acétate de Cu 0/0.

Le sulfate de cuivre mortel à 1 0/0 ne l'est pas à 0,25 0/0 ni même à 0,50 0/0.

Cinquante centigrammes poudre fermentaire + 5 centimètres cubes solution de maltose à 1,50 0/0 + 12 milligr. 5 de SO^4Cu : on met une heure et demie à 40 degrés, puis on laisse vingt heures à 15 degrés, l'hydrolyse atteint 18 0/0.

Même expérience, mais avec 25 milligrammes de SO^4Cu ; après une heure quinze minutes à 40 degrés, l'hydrolyse atteint 12 0/0.

Cependant en se plaçant dans des conditions différentes,

des traces de cuivre peuvent empêcher l'action diastasi-que.

On a fait macérer 1 gramme de poudrè fermentaire sèche dans 50 centimètres cubes de solution de sulfate de cuivre à 50 centigrammes 0/0 pendant dix-huit heures : on filtre, on lave la poudre restée sur le filtre jusqu'à ce que les eaux du lavage ne contiennent plus de traces de cuivre. On dessèche la poudre à 50 degrés à l'étuve : après dessiccation on ajoute 50 centigrammes de cette poudre à 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0. On laisse cinq heures au bain-marie à 45 degrés. On constate que l'hydrolyse du maltose est nulle. L'inactivité de la maltase doit être attribuée à une fixation du cuivre sur le tissu végétal : car l'incinération de 50 centigrammes de poudre ainsi traitée a montré la présence de traces de cuivre dans les cendres.

Action du bichlorure de mercure. — Il suffit de très petites doses de bichlorure de mercure pour empêcher l'action de la maltase insoluble du sarrasin : l'hydrolyse est nulle quand la proportion de bichlorure de Hg ajoutée à la solution de maltose atteint 1 pour 5.000 centimètres cubes.

Avec 1 pour 6.000 l'hydrolyse est possible.

Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0 + 0,00083 de bichlorure de mercure, après une heure et demie à 40 degrés on constate une hydrolyse de 15 0/0.

6° *Action des sulfates de manganèse, cadmium, zinc et nickel.* — Nous avons montré que l'addition de certains sels à acides minéraux de Ni, Cd, Mn et Zn à l'extrait de

sarrasin augmentait considérablement la rapidité de l'hydrolyse du maltose par la maltase que contient cet extrait. Nous avons émis l'hypothèse que l'action de ces coenzymes pouvait être due à leur caractère de sels acides. Ils ne devaient pas dans ce cas favoriser l'action des diastases qui agissent moins bien en milieu acide qu'en milieu alcalin : nous l'avons vérifié pour la maltase du maïs blanc des Landes (1) nous allons maintenant le constater pour la maltase insoluble du sarrasin.

Action du sulfate de nickel. — Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0 sont additionnés de doses variables de sulfate de Ni. Expérience de une heure et demie à 50 degrés.

Sulfate de Ni o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	33
0.15	30
0.50	21
1	21
2	21
5	15
10	16

Le sulfate de nickel n'a d'action favorable à aucune dose mais sa toxicité est faible puisque 10 0/0 n'empêche pas l'hydrolyse du maltose.

Action du sulfate de zinc. — A aucune dose le sulfate de zinc n'augmente la vitesse de l'hydrolyse, il est mortel à la dose de 3 0/0 : 50 centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0 additionnée de doses variables de sulfate de zinc. Expérience de une heure à 50 degrés.

1. P. 63.

SO ⁴ Zn o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	24
0,10	18
0,20	12
0,50	12
1	9
2	7
3	0

Action du sulfate de cadmium. — Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0 additionnée de dose variable de sulfate de cadmium. Expérience de une heure à 50 degrés.

Sulfate de Cd o/o	Maltose hydrolysé o/o
—	—
0	25
0,20	18
0,50	13
1	7
2	7
3	3
4	4

Le sulfate de cadmium est mortel à la dose de 4 0/0. A la dose de 10 0/0 il exerçait encore son influence favorable sur la maltase soluble du sarrasin.

Action du sulfate de manganèse. — Cinquante centigrammes de poudre fermentaire + 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0 additionnée de doses variables de sulfate de manganèse. Expérience de deux heures à 50 degrés.

Sulfate de manganèse o/o	Maltose hydrolysé o/o
0	37
0,15	36
0,50	36
1	35
2	37

Le sulfate de manganèse n'exerce pas d'action favorable sur la maltase insoluble du sarrasin : mais il n'est pas nuisible même à la dose de 2 0/0.

En résumé l'étude de l'action des sels sur la maltase insoluble du sarrasin montre que cette diastase s'accommode beaucoup mieux de la présence de sels alcalins que de sels acides au tournesol ; c'est à une conclusion opposée que nous avons été amené par nos expériences relatives à la maltase soluble.

Varations de la maltase insoluble au cours de la germination des semences de sarrasin

Nous avons établi antérieurement la coexistence dans le sarrasin non germé de maltase soluble et de maltase insoluble.

La maltase insoluble augmente-t-elle quand la maltase soluble diminue? 100 fruits de sarrasin pesant 1 gr. 97 ont été pulvérisés et traités par 50 centimètres cubes d'eau pendant une heure: on filtre, on traite à nouveau le résidu en quatre fois par 200 centimètres cubes d'eau, on recueille la poudre, on la dessèche dans le vide sulfurique, elle pèse 1 gr. 50.

D'autre part on fait germer 100 fruits de sarrasin à 30 degrés sur papier humide, avec éclairage très faible: après quatre jours on pulvérise et on fait une macération comme pour le sarrasin non germé avec 50, puis 200 centimètres cubes d'eau. Le résidu desséché dans le vide sulfurique pèse 1 gr. 35; on a alors additionné les 1 gr. 50 de sarrasin non germé et les 1 gr. 35 de sarrasin germé de 15 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0 et mis deux heures à 45 degrés.

L'hydrolyse a atteint 30 0/0 avec la poudre de sarrasin non germé et seulement 25 0/0 avec la poudre de sarrasin ayant quatre jours de germination. Une deuxième expé

rience, de tout point identique mais dans laquelle on a comparé l'activité du sarrasin non germé et du sarrasin ayant cinq jours de germination a donné les résultats suivants :

Expérience de cinq heures à 30 degrés.

Hydrolyse avec la poudre de sarrasin non germé.....	33 0/0
Hydrolyse avec la poudre de sarrasin avant cinq jours de germination.....	28 0/0

Il résulte de ces deux expériences que la proportion de maltase insoluble n'augmente certainement pas avec la germination : il semblerait même qu'elle diminue, mais nous devons nous rappeler que quelque nombreux que soient les épuisements aqueux, la poudre de sarrasin non germé contient toujours de petites quantités de maltase soluble dont l'action va s'ajouter à celle de la maltase insoluble : cette remarque nous permet de conclure que, s'il y a diminution dans la proportion de la maltase insoluble, cette diminution est très faible pendant les cinq premiers jours de la germination, c'est-à-dire jusqu'au moment de la disparition complète de la maltase soluble.

Il n'en est plus ainsi à partir du cinquième jour et nos expériences établissent qu'il y a alors diminution rapide de la maltase insoluble puis disparition totale.

Deux cents semences de sarrasin pesant 3 gr. 95 sont mises à germer dans une étuve peu éclairée à 30 degrés, en milieu humide. La germination est prolongée pendant cinq, sept et dix jours.

Les semences germées sont pulvérisées, traitées par l'eau distillée. Le résidu est exprimé à la trompe et desséché

d'abord à l'étuve à 40 degrés puis dans le vide sulfurique.

Le poids sec est de :

2 gr. 35	pour les semences ayant 5 jours de germination...	A
2 gr. 10	— — — 7 —	B
2 gr. 25	— — — 10 —	C

La faible augmentation de poids sec au dixième jour de la germination tient sans doute à une légère assimilation chlorophyllienne ; la plante commençait à verdier.

On fait agir 50 centigrammes de A et des poids proportionnels des autres poudres soit : 44 centigrammes de B et 48 centigrammes de C sur 5 centimètres cubes de solution de maltose à 1,50 0/0.

Un dosage a été fait après une heure et demie à 40 degrés.

L'hydrolyse a atteint 27 0/0 avec A, 9 0/0 avec B et 0 avec C.

On a laissé l'expérience se prolonger trois heures à 25 degrés ; l'hydrolyse a alors atteint 33 0/0 avec A, 15 0/0 avec B et 0 avec C.

On a fait une nouvelle germination à l'abri complet de la lumière de cinq, sept, huit et dix jours. Les poudres obtenues comme précédemment ont agi sur une solution de maltose à 1,50 0/0 pendant une heure et demie à 45 degrés.

				Hydrolyse du Maltose o/o
				—
Poudre de sarrasin ayant 5 jours de germ.....				30
— — — 7 jours de germ.....				12
— — — 8 jours de germ.....				6
— — — 10 jours de germ.....				0

A partir du dixième jour le sarrasin germé ne contient plus de maltase insoluble.

En résumé.

1° Les semences de sarrasin non germé contiennent de la maltase soluble et de la maltase insoluble ;

2° La proportion de maltase soluble diminue dès le début de la germination : il n'y a plus de maltase soluble après cinq jours de germination ;

3° Il n'y a jamais plus de maltase insoluble dans le sarrasin non germé que dans le sarrasin germé.

4° La proportion de maltase insoluble ne varie pas sensiblement pendant les cinq premiers jours de germination, c'est-à-dire tant qu'il reste encore de la maltase soluble. Elle diminue ensuite avec les progrès de la germination : il n'y en a plus à partir du dixième jour.

La présence de cette maltase insoluble capable en l'absence de maltase diffusible de transformer les hydrates de carbone en glucose a un grand intérêt biologique.

Nous nous proposons de rechercher sa présence chez les nombreuses semences amylacées dans lesquelles on ne trouve pas de maltase soluble : nous avons essayé de la caractériser dans les graines de maïs blanc des Landes chez lesquelles la proportion de maltase soluble diminue rapidement au cours de la germination.

Cette recherche était facile avec le sarrasin germé. Quand on a épuisé du sarrasin germé par l'eau, la pulpe ne contient plus, indépendamment de la maltase insoluble, aucun enzyme capable de déterminer la production de sucres réducteurs aux dépens de la substance végétale : la semence ne contient d'ailleurs plus d'amidon après qua-

tre jours de germination. Il n'en est pas ainsi avec le maïs blanc des Landes germé.

Au moment où la graine de maïs blanc ne contient plus que de petites quantités de maltase soluble après treize à quatorze jours de germination), il reste encore dans la graine une assez forte proportion d'amidon : et quand on élimine par de nombreux traitements aqueux la petite quantité de diastases solubles que contient encore la graine, qu'on s'est assuré que les dernières eaux de lavage avaient perdu toute activité vis-à-vis de l'amidon et de la maltose, la semence contient encore de l'amylo-maltase non dialysable, non diffusible et qui continue la transformation de l'amidon en glucose.

Nous allons montrer que la présence de cette amylo-maltase vient rendre très difficile sinon impossible la recherche de la maltase insoluble.

Du maïs blanc des Landes ayant treize jours de germination est épuisé par l'eau distillée : on constate que les dernières eaux de lavage ne contiennent plus que des traces de sucres réducteurs et qu'elles ne renferment plus ni amylase ni maltase.

On recueille la poudre, on la sèche à l'étuve, on mélange ensuite d'une part 4 grammes de cette poudre avec 40 centimètres cubes d'eau distillée, d'autre part 4 grammes de la poudre avec 40 centimètres cubes de solution de maltose à 1 0 0. On laisse six heures à 50 degrés ; on filtre puis on dose la proportion de sucres réducteurs contenue dans les deux liquides. Le liquide sans maltose avait un pouvoir réducteur plus considérable : ceci ne pouvait s'expliquer que par l'action irrégulière de l'amylo-maltase

sur les substances hydrocarbonées contenues dans les graines.

Nous avons institué une série d'expériences en exposant à une température de 40 degrés, pendant le même temps, après addition du même volume d'eau, des poids égaux de poudre de maïs germé épuisée comme nous venons de l'indiquer et rendue aussi homogène que possible par une trituration prolongée. La quantité de sucres réducteurs produite était très différente ; dans certains cas elle variait du simple au double. Ce fait rend impossible la constatation de l'hydrolyse du maltose.

En l'absence de maltase insoluble la présence de l'amylo-maltase suffit d'ailleurs à expliquer la transformation de l'amidon en glucose.

CHAPITRE IV

Recherche de la maltase dans la série végétale

Nous avons constaté au cours de ce travail la présence de la maltase soluble dans les semences des différentes espèces de maïs et dans les semences du sarrasin.

Nous l'avons recherchée chez les autres Graminées. Nous avons dans ce but fait des extraits de semences de blé, d'orge, d'avoine et de seigle non germées. Les extraits ont été additionnés de 1 0/0 de maltose, on n'a constaté aucune hydrolyse après quatre heures à 45 degrés.

Le résultat a été également négatif quand on a rendu le milieu (dont la réaction est alcaline à l'hélianthine) légèrement acide par addition d'acide sulfurique ou d'acide acétique.

Il n'existe donc pas de maltase soluble chez les Graminées autres que le maïs.

Parmi les Polygonées nous n'avons pas trouvé de maltase dans les semences de *Rheum rhaponticum*, *Rumex acetosa*, *Rumex patientia*.

Recherche également négative chez *Spinacia oleracea*, *Beta vulgaris* (Chénopodiacées) *Calystegia sepium*, *Convol-*

vulus arvensis (Convolvulacées), *Salvia pratensis* (Labiées) *Tragopogon pratensis*, *Lactuca virosa* (Composées), (*Hibiscus*) *syriacus*, *Malva sylvestris* (Malvacées), *Petroselinum sativum* (Ombellifères).

On a signalé la présence de la maltase dans *Soja hispida*. Nous l'avons recherchée chez d'autres légumineuses.

Il n'en existe pas chez *Cercis siliquastrum* (Légumineuses Césalpiniées).

Vicia sativa, *Faba vulgaris* (Légumineuses Papilionacées).

Nous en avons trouvé dans *Pisum sativum*, *Cytisus Laburnum* et *Phaseolus multiflorus* (Légumineuses Papilionacées).

Maltase du Cytisus laburnum. — On fait un extrait de semences de *Cytisus laburnum* à 10 0/0. On filtre après macération d'une heure, l'extrait est additionné de 1 0/0 de maltose : on met à 45° degrés ; après quatre heures l'hydrolyse atteint 10 0/0, on laisse l'expérience se poursuivre pendant seize heures à la même température : nouvelle hydrolyse de 20 0/0, au total à 45° degrés en vingt-quatre heures l'hydrolyse a atteint 30 0/0.

Maltase du Pisum sativum. — L'extrait obtenu comme celui de cytise a été additionné de 1 0/0 de maltose : après cinq heures à 40° degrés l'hydrolyse atteint 10,50 0/0 ; l'expérience est prolongée vingt heures à cette température ; nouvelle hydrolyse de 34 0/0 : au total en vingt-cinq heures l'hydrolyse a atteint 44,50 0/0.

Maltase du Phaseolus multiflorus. — L'extrait est obtenu par macération d'une heure à 10 0/0 de semences

de Phaseolus. On ajoute 1 0/0 de maltose et on met six heures à 45 degrés, l'hydrolyse atteint 21 0/0.

Nous avons cherché à localiser la maltase dans la semence du haricot ; on a séparé par dissection l'embryon (moins les cotylédons) et le reste de la graine : puis on a fait des extraits aqueux à 10 0/0. L'extrait de cotylédons et de téguments de la semence s'est montré absolument incapable d'hydrolyser le maltose : l'extrait d'embryon contient de la maltase.

a) Extrait d'embryons de haricot + 2 0/0 de maltose : après quatre heures à 40 degrés l'hydrolyse du maltose atteint 8,80 0/0.

b) Extrait d'embryons de haricot + 2 0/0 de maltose. Après vingt-six heures à 50 degrés l'hydrolyse du maltose est complète.

c) Extrait d'embryons de haricot + 2 0/0 de maltose : après trente heures à 40 degrés l'hydrolyse du maltose atteint 40 0/0.

La maltase se trouve donc très nettement localisée dans la plantule moins les cotylédons : il n'en existe pas de traces appréciables dans l'assise protéique.

Nous n'avons pu nous livrer à une étude un peu détaillée de cette maltase qui n'existe qu'en très petite quantité dans le haricot : les extraits d'embryon sont plus actifs, mais des centaines de graines ne peuvent donner que quelques grammes d'embryons. Nous avons cependant pu établir que l'optimum de la maltase de l'embryon du haricot se trouvait aux environs de 50 degrés.

Extrait d'embryons de haricot + 2 0/0 de maltose :
Expérience de vingt-deux heures.

Températures	Maltose hydrolysé o/o
40	45 0/0
50	65 0/0
60	50 0/0

En résumé, il existe donc une petite quantité de maltase dans les graines de certaines légumineuses : mais la proportion en est beaucoup moins élevée que dans les semences de maïs et de sarrasin et n'en permet pas une étude aussi complète.

CONCLUSIONS

Ce travail nous a permis d'établir les faits suivants :

I. — Au point de vue chimique.

α) Si les maltases ont pour caractère commun de transformer le maltose en glucose, les circonstances de cette transformation sont absolument variables avec les espèces végétales étudiées : l'influence des acides, des amino-acides, des alcalis, des sels s'exerçant parfois dans des sens diamétralement opposés.

β) Ces différences dans le fonctionnement des maltases s'affirment autant au point de vue physique qu'au point de vue chimique, justifiant la division en maltases hautes et basses agissant dans les limites de températures dont la fixité est indépendante des modifications que l'on fait subir aux conditions chimiques du milieu.

II. — Au point de vue biologique.

α) Il existe de la maltase dans les graines de maïs, de sarrasin et de certaines légumineuses ; sa présence dans les semences amy lacées n'est pas un fait général.

β) La germination produit une diminution puis une disparition complète de la maltase des semences de sarrasin.

Le même fait a été constaté pour la maltase du maïs

blanc des Landes, sans toutefois que l'on puisse conclure formellement à la destruction réelle de l'enzyme.

γ) La maltase se trouve nettement localisée dans l'embryon et sans doute exclusivement dans la tigelle, la gemmule et la radicule. On n'en trouve pas dans l'albumen (maïs jaune des Landes) ni dans les cotylédons, l'assise protéique, les téguments de la graine du haricot.

δ) La maltase est accompagnée dans les semences du sarrasin de maltase insoluble dont la proportion, fixe au début de la germination, diminue ensuite progressivement. Cette diastase disparaît totalement quand la germination est assez avancée.

ε) Les semences de maïs contiennent de l'amylo-maltase transformant les réserves amylacées des graines en glucose dans des conditions dans lesquelles la maltase ne peut manifester son activité.

η) L'existence de la maltase insoluble et de diastases analogues à l'amylo-maltase permet de comprendre l'utilisation des réserves amylacées par la plantule chez les semences dans lesquelles la présence de maltase soluble ne peut être mise en évidence.

Travail du Laboratoire de Physique végétale
du Muséum d'Histoire Naturelle.

Vu et approuvé,
Paris, le 17 décembre 1909
Le Doyen de la Faculté des Sciences
PAUL APPELL

Vu et permis d'imprimer
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris
L. LIARD

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

GÉOLOGIE. — Les Volcans quaternaires du Plateau central.

PHYSIOLOGIE. — Dégénérescence et Régénération des Nerfs en rapport avec la doctrine du Neurone.

Vu et approuvé
Paris, le 17 décembre 1909
Le Doyen de la Faculté des Sciences
PAUL APPELL

Vu et permis d'imprimer
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris
L. LIARD

Imp. **Henri Jouve**, 15, rue Racine, Paris.

